Strumento AB SCIEX Triple Quad™ 3500

Guida per l'Utente

RUO-IDV-05-1418-IT-A

Giugno 2014

Il presente documento è fornito ai clienti che hanno acquistato le apparecchiature AB Sciex come guida per l'uso e il funzionamento di queste ultime. Il presente documento è protetto da copyright e la sua riproduzione, parziale o integrale, è severamente vietata, salvo autorizzazione scritta da parte di AB Sciex.

Il software menzionato nel presente documento viene fornito con un contratto di licenza. La copia, le modifiche e la distribuzione del software attraverso qualsiasi mezzo sono vietate dalla legge, salvo diversa indicazione presente nel contratto di licenza. Inoltre il contratto di licenza può vietare che il software venga disassemblato, sottoposto a reverse engineering o decompilato per qualsiasi fine. Le garanzie sono indicate nel presente documento.

Alcune parti di questo documento possono far riferimento a produttori terzi e/o ai loro prodotti, che possono contenere parti i cui nomi siano registrati e/o siano usati come marchi registrati dai rispettivi proprietari. Tali riferimenti mirano unicamente a designare i prodotti di terzi forniti da AB Sciex e incorporati nelle sue apparecchiature e non implicano alcun diritto e/o licenza circa l'utilizzo o il permesso concesso a terzi di utilizzare i nomi di tali produttori e/o dei loro prodotti come marchi registrati.

Le garanzie di AB Sciex sono limitate alle garanzie espresse fornite al momento della vendita o della licenza dei propri prodotti e costituiscono le uniche ed esclusive dichiarazioni, garanzie e obblighi di AB Sciex. AB Sciex non concede altre garanzie di nessun tipo, né espresse né implicite, comprese, a titolo esemplificativo, garanzie di commerciabilità o di idoneità per uno scopo particolare, derivanti da leggi o altri atti normativi o dovute a pratiche ed usi commerciali, tutte espressamente escluse, né si assume alcuna responsabilità o passività potenziale, compresi danni indiretti o conseguenti, per qualsiasi utilizzo da parte dell'acquirente o per eventuali circostanze avverse conseguenti.

Solo per scopi di ricerca. Non usare nelle procedure diagnostiche.

I marchi registrati menzionati nel presente documento sono di proprietà di AB Sciex Pte. Ltd. o dei rispettivi proprietari.

AB SCIEX™ è utilizzato su licenza.

© 2014 AB Sciex Pte. Ltd.

AB Sciex Pte. Ltd.
Blk 33, #04-06
Marsiling Ind Estate Road 3
Woodlands Central Indus. Estate.
SINGAPORE 739256

Contenuto

Capitolo 1 Precauzioni operative e limitazioni....7
Informazioni generali sulla sicurezza....7
Conformità alle normative....7
Australia e Nuova Zelanda....7
Canada....8
Europa....8
Stati Uniti....8
Internazionali....9
Precauzioni elettriche....9
Alimentazione CA....9
Messa a terra....9
Precauzioni chimiche....10
Fluidi approvati per il sistema....10
Precauzioni per la ventilazione....11
Precauzioni ambientali....12
Compatibilità elettromagnetica....13
Smantellamento e smaltimento (residui, apparecchiature elettriche ed elettroniche)....14
Personale qualificato....14
Uso e modifiche dell'apparecchiatura....14
Formazione e documentazione per il cliente....15
Contattateci....15

Capitolo 2 Simboli di rischio....16
Simboli di salute e sicurezza sul lavoro....16
Simboli, indicazioni ed etichette: imballaggio....18
Simboli, indicazioni ed etichette: spettrometro di massa....20
Simboli e convenzioni presenti nella documentazione....21

Capitolo 3 Principi di funzionamento....22
Panoramica del sistema....22
Panoramica dell'hardware....22
Simboli del pannello....23
Collegamenti....23
Principi teorici di funzionamento....25
Gestione dei dati....26

Capitolo 4 Istruzioni operative—Hardware....27
Avvio del sistema....27
Ripristino dello spettrometro di massa....28
Arresto del sistema....28
Collegamento dello spettrometro di massa....29
Regolare la Posizione della Pompa a Siringa Integrata....29
Collegamento della valvola deviatrice in modalità iniettore....33
Collegamento della valvola deviatrice in modalità deviatore....34

Capitolo 5 Istruzioni operative — Profili hardware e progetti....37
Profili hardware....37
Creazione di un profilo hardware....37
Aggiunta di dispositivi a un profilo hardware....41
Risoluzione dei problemi - Attivazione di un profilo hardware....43
Progetti e sottoprogetti....43
Creazione di progetti e sottoprogetti....43
Creazione di sottoprogetti....44
Copia dei sottoprogetti....44
Commutazione tra progetti e sottoprogetti....44
Cartelle di progetto installate....45
Backup della cartella API Instrument....45
Recupero della cartella API Instrument....46

Capitolo 6 Istruzioni Operative — Sintonizzazione e calibrazione....47
Ottimizzazione dello spettrometro di massa....47
Finestra di dialogo Verifying or Adjusting Performance....48
Results Summary....48

Capitolo 7 Istruzioni operative — Ottimizzazione automatica....50
Informazioni sulla ottimizzazione automatica....50
Tipi di introduzione del campione....51
Ottimizzazione automatica di un analita mediante infusione....52
Conferma della presenza di composti....52
Esecuzione dell'ottimizzazione MS e MS/MS automatica mediante l'infusione uno ione precursore conosciuto e uno ione prodotto sconosciuto....53
Controllo dei risultati dell'ottimizzazione....56
Ottimizzazione automatica di un analita mediante FIA....57

Capitolo 8 Istruzioni operative — Metodi di acquisizione....65
Creazione di un metodo di acquisizione mediante Acquisition Method Editor....65
Configurazione della pompa siringa....66
Aggiunta di un esperimento....66
Aggiunta di un periodo....66
Copia di un esperimento in un periodo....66
Copia di un esperimento contenuto in un periodo....67
Tecniche di scansione....67
Tipi di scansione in modalità quadrupolo....67
Note sull'acquisizione dei dati spettrali....68
Parametri....68

Capitolo 9 Istruzioni operative — Batch....73
Impostazione delle opzioni della coda....73
Aggiunta di gruppi e campioni ad un batch....74
Invio di un campione o un set di campioni....77
Modifica dell'ordine dei campioni....78
Acquisizione dati....78
Impostazione della posizione dei campioni nel Batch Editor....79
Selezione della posizione delle vial tramite la scheda Locations (opzionale)....79
Impostazione dei dettagli di quantificazione nel Batch Editor (opzionale)....80
Arresto dell'acquisizione dei campioni....81
Importazione e trasmissione dei file di batch....81
Costruzione di un batch sotto forma di file di testo....81
Importazione di un batch sotto forma di file di testo....82

Menu pulsante destro del Batch Editor 82
Stati della coda e stato del dispositivo....83
Stati della coda....83
Visualizzazione delle icone di stato dello strumento e dei dispositivi....84
Menu tasto destro Queue....85

Capitolo 10 Istruzioni Operative — Analisi ed elaborazione dei dati....87
Apertura dei file di dati....87
Navigazione tra i campioni in un file di dati....87
Mostra Condizioni Sperimentali....88
Visualizzazione dei dati in tabelle....89
Visualizzazione dei dati ADC....90
Visualizzazione dei dati quantitativi di base....91
Cromatogrammi....91
Visualizzazione dei i TIC da uno spettro....92
Visualizzazione di uno spettro da un TIC....92
Informazioni sulla generazione di XIC....92
Generazione di uno XIC utilizzando un intervallo selezionato....93
Generazione di uno XIC usando il picco massimo....93
Generazione di uno XIC tramite le masse dei picchi di base....94
Estrazione di ioni tramite selezione delle masse....94
Generazione dei BPC....95
Generazione deglii XWC....96
Generazione di dati DAD....97
Generazione dei TWC....97
Regolazione della soglia....98
Riquadri del cromatogramma....98
Riquadri spettro....99
Elaborazione dei dati....100
Grafici....100
Gestione dei dati....101
Ingrandimento sull'asse Y....102
Ingrandimento sull'asse X....102

Capitolo 11 Istruzioni Operative — Analisi ed elaborazione dei dati quantitativi....104
Analisi quantitativa....104
Metodi di quantificazione....104
Note sulle Results Tables....105
Metodi quantitativi e tabelle dei risultati....105
Creazione di un metodo usando il Quantitation Method Editor....105
Creazione di una Results Table usando il Quantitation Wizard....107
Creazione di una query standard....108
Menu tasto destro Results Table 111
Verifica e integrazione manuale dei picchi....111
Verifica dei picchi....112
Integrazione manuale dei picchi....115
Verifica picco: menu tasto destro....116
Curve di calibrazione....117
Visualizzazione delle curve di calibrazione....117
Sovrapposizione delle curve di calibrazione....118
Curva di calibrazione: menu tasto destro....119
Statistiche del campione....120
Visualizzazione delle statistiche per standard e QC....120
Confronto dei risultati tra i batch....121

Capitolo 12 Software Reporter....122
Interfaccia utente Reporter....123
Generazione di rapporti....125
Capitolo 13 Informazioni su Assistenza e Manutenzione....127
Programma di pulizia e manutenzione consigliato....127
Pulizia delle superfici....128
Pulizia della parte frontale....129
Sintomi della contaminazione....129
Materiali richiesti....129
Buone pratiche....130
Preparazione dello spettrometro di massa....131
Pulizia del separatore di interfaccia....132
Pulizia della parte frontale del separatore di vuoto....133
Rimessa in funzione dello spettrometro di massa....133
Svuotamento del contenitore di raccolta scarichi della sorgente....133
Stoccaggio e manipolazione....134
Capitolo 14 Risoluzione dei problemi....136
Appendice A Istruzioni di funzionamento — Ottimizzazione manuale....137
Informazioni sull'ottimizzazione manuale dei composti....138
Informazioni sui tipi di scansione....138
Ottimizzazione manuale di un analita....138
Conferma della presenza di composti....139
Ottimizzazione dei parametri specifici per MS....140
Determinazione degli ioni prodotto per l'ottimizzazione....142
Ottimizzazione del Potenziale in Uscita dalla Camera di Collisione per ogni Ione Prodotto....143
Ottimizzazione Manuale della sorgente di ionizzazione e dei Parametri del Gas....144
Preparazione della sorgente di ionizzazione....144
Ottimizzazione dei parametri della sorgente di ionizzazione....144
Appendice B Elenco componenti della spedizione....146
Componenti della Spedizione....146
Appendice C Parametri per strumenti AB SCIEX Triple Quad 3500....147
Appendice D Soluzioni e ioni per la calibrazione....149
Appendice E Icone della barra degli strumenti....150
Cronologia delle revisioni....157
Indice....158

Precauzioni operative e limitazioni 1

Nota: Prima di azionare il sistema, leggere attentamente tutte le sezioni di questa guida.

Questa sezione contiene informazioni generali sulla sicurezza e fornisce indicazioni sulla conformità alle normative. Descrive anche i rischi, i pericoli e le relative avvertenze per il sistema, nonché le precauzioni che dovrebbero essere prese per ridurre al minimo i rischi.

Oltre alla presente sezione, fare riferimento a *Simboli di rischio a pagina 16* per ulteriori informazioni sui simboli e le convenzioni utilizzate in ambiente di laboratorio, sul sistema e nella documentazione. Fare riferimento alla *Guida alla Pianificazione del Sito* per informazioni sui requisiti del sito, compresi i requisiti di alimentazione CA, scarico della sorgente, ventilazione, aria, azoto e pompa per vuoto.

Informazioni generali sulla sicurezza

Per evitare infortuni o danni al sistema, leggere, comprendere e rispettare tutte le precauzioni di sicurezza e gli avvertimenti specificati nel presente documento, nonché le etichette apposte sullo spettrometro di massa. Le etichette riportano simboli riconosciuti a livello internazionale. La mancata osservanza di queste avvertenze potrebbe causare infortuni gravi.

Queste informazioni di sicurezza sono destinate ad integrare le normative federali, statali o provinciali e locali su salute, ambiente e sicurezza (SAS). Le informazioni fornite coprono la sicurezza relativa al sistema per quanto riguarda il funzionamento del spettrometro di massa. Non coprono tutte le procedure di sicurezza che dovrebbe essere messe in atto. In definitiva, l'utente e l'organizzazione sono responsabili della conformità alle normative federali, statali o provinciali e locali su salute, ambiente e sicurezza (SAS) e della sicurezza dell'ambiente di laboratorio.

Per ulteriori informazioni, consultare il materiale di riferimento appropriato e le procedure operative standard per il laboratorio.

Conformità alle normative

Australia e Nuova Zelanda

Il sistema è conforme alle seguenti norme e standard in Australia e Nuova Zelanda. Le relative etichette sono state affisse al sistema.

- Compatibilità elettromagnetica (EMC)—Radio Communications Act 1992 come implementato negli standard:
  - AS/NZS CISPR 11:2004 (Classe A)
  - EN 55011:2007 + Am2:2007
  - CISPR 11:2003 + Am1:2004 + Am2:2006

- Sicurezza—AS/NZ 61010-1

Per ulteriori informazioni, fare riferimento alla Dichiarazione di Conformità allegata al sistema e ai singoli componenti del sistema.

Canada

Il sistema è conforme alle seguenti norme canadesi, nonché ai seguenti standard. Le relative etichette sono state affisse al sistema.

- Compatibilità elettromagnetica (EMC)—CAN/CSAA CISPR11. Il sistema ISM è conforme alla norma canadese ICES-001.
- Norme provinciali per la sicurezza elettrica — Atto sull'elettricità 1998, Sicurezza del prodotto, Ontario
- Standard per la sicurezza — CAN/CSA C22.2 N. 61010-1 e CAN/CSA C22.2 N. 61010-2-061

Per ulteriori informazioni, fare riferimento alla Dichiarazione di Conformità allegata al sistema e ai singoli componenti del sistema.

Europa

Il sistema è conforme alle seguenti norme europee, nonché ai seguenti standard. Le relative etichette sono state affisse al sistema.

- Direttiva relativa alla compatibilità elettromagnetica (EMC) 2004/108/CE come implementato in questi standard:
  - EN61326-1:2006 e IEC 61326-1:2005
  - EN 55011:2009, CISPR 11:2009
  - EN 61000-3-2:2006 + Am2:2009, IEC 61000-3-2:2005 + Am2:2009
  - IEC 61000-3-3:2008
- Residuo di apparecchiature elettriche ed elettroniche 2012/96/CEE
- Direttive relative alla bassa tensione 2006/95/CE come implementato in questi standard:
  - EN 61010-1
  - EN 61010-2-061

Per ulteriori informazioni, fare riferimento alla Dichiarazione di Conformità allegata al sistema e ai singoli componenti del sistema.

Stati Uniti

Il sistema è conforme alle seguenti norme statunitensi, nonché ai seguenti standard. Le relative etichette sono state affisse al sistema.

- Norme sulle interferenze per emissioni radio — 47 CFR 15 come implementato in questo standard: - FCC Parte 15 (Classe A)
- Norme per la salute e la sicurezza sul lavoro — 29 CFR 1910 come implementato in questo standard UL 61010-1-04, IEC 61010-2-061, IEC 61010-2-101

Per ulteriori informazioni, fare riferimento alla Dichiarazione di Conformità allegata al sistema e ai singoli componenti del sistema.

Internazionali

Il sistema è conforme alle seguenti norme internazionali, nonché ai seguenti standard. Le relative etichette sono state affisse al sistema.

- Compatibilità elettromagnetica — Direttiva relativa alla compatibilità elettromagnetica (EMC) 2004/108/CE come implementato in questi standard:
  - IEC 61326-1
  - IEC CISPR 11 (Classe A)
  - EN 55011
  - IEC 61000-3-2
  - IEC 61000-3-3
- Standard per la sicurezza — UL 61010-1, IEC 61010-2-061, IEC 61010-2-101

Per ulteriori informazioni, fare riferimento alla Dichiarazione di Conformità allegata al sistema e ai singoli componenti del sistema.

Precauzioni elettriche

Alimentazione CA

AVVERTENZA! Pericolo di Scosse Elettriche: Rivolgersi solo a personale qualificato per l'installazione di tutte le apparecchiature elettriche e gli elementi dell'impianto, e assicurarsi che tutte le installazioni siano in conformità con le normative in vigore in loco.

Non è necessario un trasformatore esterno per lo spettrometro di massa, il banco opzionale o le pompe per vuoto.

Attenzione: Rischio di danni al sistema: Non aprire gli imballaggi della cassa dello spettrometro di massa o le scatole dei computer. Il Responsabile dell'Assistenza Tecnica (FSE) aprirà gli imballaggi e trasporterà lo spettrometro di massa durante l'installazione.

Per informazioni sulle specifiche dell'impianto elettrico, fare riferimento a o alla *Guida alla Pianificazione del Sito*.

Messa a terra

La rete elettrica deve includere una messa a terra correttamente installata. Il conduttore di terra deve essere installato o controllato da un elettricista qualificato prima della connessione dello spettrometro di massa. Verificare che il connettore di alimentazione sia accessibile, in modo da poter scollegare il dispositivo.

AVVERTENZA! Pericolo di Scosse Elettriche: non interrompere intenzionalmente il messa a terra. Ogni interruzione del messa a terra può rendere l'installazione pericolosa.

Precauzioni chimiche

- Determinare quali prodotti chimici sono stati usati nel sistema prima di effettuare la manutenzione o interventi di assistenza. Fare riferimento alle Schede di Sicurezza per le precauzioni in termini di salute e sicurezza che devono essere prese quando si trattano prodotti chimici.
- Lavorare in un ambiente ben ventilato.
- Indossare sempre i dispositivi di protezione individuale assegnati, inclusi guanti in neoprene privi di polvere, occhiali di sicurezza e camice da laboratorio.
- Seguire le norme di sicurezza relative ai lavori in presenza di elettricità.
- Evitare le potenziali fonti di scintille quando si lavora coi materiali infiammabili, come alcool isopropilico, metanolo e altri solventi infiammabili.
- Fare attenzione nell'uso e nello smaltimento di qualunque prodotto chimico. Sussiste il rischio di infortunio se le procedure corrette per il trattamento e lo smaltimento dei materiali chimici non sono rispettate.
- Evitare il contatto dei prodotti chimici con la pelle durante la pulizia e lavare le mani dopo l'uso.
- Operare in conformità a tutte le normative locali per lo stoccaggio, il trattamento e lo smaltimento dei materiali radioattivi, tossici o a rischio biologico.

Fluidi approvati per il sistema

I seguenti fluidi possono essere impiegati in sicurezza nel sistema. Per informazioni sulle soluzioni detergenti sicure, fare riferimento a *Informazioni su Assistenza e Manutenzione a pagina 127*.

Attenzione: Rischio di danni al sistema: non utilizzare nessun altro fluido prima di aver ricevuto conferma da AB SCIEX che il suo utilizzo non comporti alcun rischio. Questo non è un elenco esaustivo.

- **Solventi organici**
  - Acetonitrile per MS; fino al 100%
  - Metanolo per MS; fino al 100%
  - Alcool isopropilico; fino al 100%
  - Acqua per HPLC o superiore; fino al 100%

- **Tamponi**
  - Acetato d'ammonio; meno dell'1%
  - Formiato d'ammonio; meno dell'1%
- **Acidi e basi**
  - Acido formico; meno dell'1%
  - Acido acetico; meno dell'1%
  - Acido trifluoroacetico; (TFA) meno dell'1%
  - Acido eptafluorobutirrico; (HFBA) meno dell'1%
  - Ammoniaca/Idrossido di ammonio; meno dell'1%

Precauzioni per la ventilazione

L'areazione dei fumi e lo smaltimento dei residui devono avvenire in conformità con tutte le normative in materia di salute e sicurezza a livello federale, statale, provinciale e locale. Usare il sistema al coperto, in un laboratorio conforme alle condizioni ambientali raccomandate nella *Guida alla Pianificazione del Sito*.

Il sistema di scarico della sorgente di ionizzazione dello spettrometro di massa e la pompa per vuoto devono essere spurgati in una cappa aspirante esterna o in un sistema di scarico esterno, come consigliato nella *Guida alla Pianificazione del Sito*.

AVVERTENZA! Pericolo di esposizione ad agenti chimici tossici o rischio biologico: assicurarsi che la ventilazione dei gas esausti avvenga in maniera corretta e che il tubo della bocca di aspirazione sia fissato con morsetti. L'uso degli spettrometri di massa senza una ventilazione adeguata verso l'esterno può comportare rischi per la salute. In queste condizioni una ventilazione inadeguata può causare gravi infortuni.

AVVERTENZA! Pericolo di contaminazione da radiazioni, rischio biologico o di esposizione ad agenti chimici tossici: assicurarsi che lo spettrometro di massa sia collegato al sistema di scarico locale e debitamente canalizzato per tenere le emissioni pericolose sotto controllo. Il sistema deve essere usato solo in un ambiente di laboratorio ben ventilato, in conformità con le normative locali e con un ricambio dell'aria appropriato per il lavoro da svolgere. Alcune giurisdizioni consigliano 4-12 ricambi dell'aria all'ora all'interno dei laboratori.

AVVERTENZA! Pericolo di contaminazione da radiazioni, rischio biologico o di esposizione ad agenti chimici tossici: non usare lo spettrometro di massa se il tubo di scarico della sorgente e i tubi di scarico della pompa per vuoto non sono collegati all'impianto di ventilazione del laboratorio. Alcune procedure richieste durante l'uso dello spettrometro di massa potrebbero causare l'immissione dei gas nel flusso degli scarichi. Eseguire un controllo regolare dei tubi di scarico per constatare l'assenza di perdite.

AVVERTENZA! Rischio di Contaminazione da Radiazioni o Esposizione ad Agenti Tossici Chimici e Biologici: Utilizzare la sorgente di ionizzazione solo se si hanno la conoscenza e l'esperienza necessarie riguardo l'utilizzo, il contenimento e l'evacuazione dei materiali tossici o nocivi utilizzati con la sorgente di ionizzazione. Interrompere l'uso della sorgente di ionizzazione se la finestra risulta crepata o rotta e contattare un responsabile dell'assistenza tecnica AB SCIEX. Qualsiasi materiale tossico o nocivo introdotto nell'apparecchiatura sarà presente nella sorgente di ionizzazione e nel sistema di scarico. Smaltire gli oggetti taglienti seguendo le procedure di sicurezza previste dal laboratorio.

Precauzioni ambientali

Rivolgersi a personale qualificato per l'installazione di apparecchiature ed elementi dell'impianto elettrico, di riscaldamento, di ventilazione e idraulico. Assicurarsi che tutte le installazioni siano in conformità con le leggi in vigore in loco e con le normative in tema di rischio biologico. Per ulteriori informazioni sulle condizioni ambientali richieste per il sistema, fare riferimento alla *Guida alla Pianificazione del Sito*.

PERICOLO! Pericolo di Esplosione: Non usare il sistema in un ambiente che contiene gas esplosivi. Il sistema non è progettato per essere usato in ambienti contenenti gas esplosivi.

AVVERTENZA! Rischio biologico: quando si usano materiali che comportano un rischio biologico, rispettare sempre le normative locali in tema di valutazione, controllo e gestione del rischio. Questo spettrometro di massa o qualsiasi sua parte non è progettato per funzionare come una cabina di contenimento biologico di sicurezza.

Attenzione: Potenziale spostamento di massa: mantenere una temperatura ambiente stabile. Una variazione della temperatura superiore ai 2 °C influisce sulla risoluzione e sulla calibrazione di massa.

Compatibilità elettromagnetica

Attenzione: Pericolo di errori nei risultati: non utilizzare il dispositivo in prossimità di sorgenti di forti radiazioni elettromagnetiche (EMC) (ad esempio sorgenti RF intenzionali non schermate) in quanto le radiazioni EMC potrebbero interferire con il corretto funzionamento del sistema e causare errori nei risultati.

Verificare il mantenimento di condizioni elettromagnetiche compatibili con l'apparecchiatura al fine di garantire il corretto funzionamento del dispositivo.

In un ambiente domestico, il dispositivo potrebbe causare interferenze radio. In questo caso l'utente potrebbe dover adottare delle contromisure al fine di limitare tali interferenze. Valutare la compatibilità elettromagnetica prima di utilizzare il dispositivo.

I cambiamenti o le modifiche non espressamente approvati dal costruttore possono rendere nulla l'autorizzazione ad utilizzare l'apparecchiatura.

Europa

Questo apparecchio è conforme ai requisiti di emissione e immunità descritti nella norma IEC 61326-2-6. L'apparecchio è stato progettato e collaudato in conformità alla CISPR 11 Classe A e alla EN 55011 Classe A.

Stati Uniti

Questa apparecchiatura è stata testata ed è risultata conforme ai limiti dei dispositivi digitali di Classe A, seguenti alla Parte 15 delle Normative FCC (Federal Communications Commission Compliance).

Questi limiti sono concepiti per offrire una protezione ragionevole contro le interferenze dannose quando l'apparecchiatura viene utilizzata in un ambiente aziendale. Questa apparecchiatura genera, utilizza e può irradiare energia a radiofrequenza e, se non installata e utilizzata secondo quanto indicato nella presente guida, può causare interferenze dannose alle comunicazioni radio.

Smantellamento e smaltimento (residui, apparecchiature elettriche ed elettroniche)

Prima dello smantellamento, decontaminare il sistema prima secondo le norme nazionali vigenti. Attenersi al processo "red tag" ABSCIEX e compilare il Modulo di Decontaminazione per la restituzione dello strumento.

Al momento della messa fuori servizio del sistema, separare e riciclare i diversi materiali secondo le normative ambientali vigenti a livello nazionale e locale. Fare riferimento alla *Stoccaggio e manipolazione a pagina 134*.

Non smaltire i componenti o le unità del sistema, incluse le parti dei computer, nei residuo comuni non differenziati. Seguire le norme locali e comunali per le disposizioni appropriate in tema di smaltimento per ridurre l'impatto ambientale dei c.d. WEEE (residuo elettrici ed elettronici). Per uno smaltimento sicuro delle apparecchiature, rivolgersi al Servizio Assistenza Tecnica di zona per il ritiro e il riciclaggio.

Nota: AB SCIEX non accetterà resi se non è stato prima compilato il Modulo di Decontaminazione.

Personale qualificato

Solo il personale qualificato interno ad AB SCIEX dovrà installare il sistema e condurre le riparazioni sullo stesso. Dopo aver installato il sistema, il Responsabile dell'Assistenza Tecnica (FSE) utilizza la *Customer Familiarization Checklist* (Lista di controllo per la formazione breve) per formare il cliente riguardo il funzionamento, la pulizia e la manutenzione di base del sistema.

La manutenzione delle apparecchiature deve essere affidata esclusivamente a personale qualificato del produttore. Durante l'installazione una persona incaricata dal laboratorio può essere messa a conoscenza delle procedure per Operatore qualificato addetto alla manutenzione (QMP).

Uso e modifiche dell'apparecchiatura

Utilizzare il sistema al coperto, in un laboratorio conforme alle condizioni ambientali raccomandate nella *Guida alla Pianificazione del Sito*.

Se il sistema viene utilizzato in un ambiente o in un modo non conforme a quanto specificato dal produttore, la protezione fornita dall'apparecchiatura può essere compromessa.

Le modifiche o il funzionamento non autorizzato del sistema potrebbero causare infortuni e danni alle apparecchiature, oltre che invalidare la garanzia. Possono essere generati dati non affidabili se il sistema è usato in condizioni che non rispettano i valori ambientali raccomandati o se sono state apportate modifiche non autorizzate. Contattare un Responsabile dell'Assistenza Tecnica (FSE) per informazioni sulla manutenzione.

AVVERTENZA! Rischio di lesioni personali: utilizzare solo parti consigliate da AB SCIEX. L'uso di parti non consigliate da AB SCIEX o l'impiego di parti per scopi diversi da quelli previsti può mettere a rischio l'utente o avere un impatto negativo sulle prestazioni del sistema. La protezione fornita dall'apparecchiatura può risultare compromessa se l'apparecchiatura viene utilizzata in modo diverso da quanto specificato da AB SCIEX.

Formazione e documentazione per il cliente

Per informazioni sulla formazione, visitare il sito web ABSCIEX (www.absciex.com/training).

La *Guida alla Pianificazione del Sito* è fornita al cliente prima dell'installazione. Le guide e le esercitazioni per il software Analyst® sono installate automaticamente con il software e sono disponibili nel menu Start: **Tutti i programmi** > **AB SCIEX** > **Analyst** . Le guide per lo spettrometro di massa sono disponibili nel *DVD Customer Reference*. Le guide per le sorgenti di ionizzazione sono disponibili nel *CD Ion Source Customer Reference*. Un elenco completo della documentazione disponibile è riportato nel menu Help. Per visualizzare il menu Help (Guida) del software **Analyst**, premere **F1.**

Contattateci

Assistenza AB SCIEX

- support@absciex.com
- www.absciex.com

Formazione dei clienti

- In Nord America: NA.CustomerTraining@absciex.com
- In Europa: Europe.CustomerTraining@absciex.com

Documentazione clienti

- techpubs@absciex.com

Simboli di rischio 2

In questa sezione vengono elencati i simboli di rischio e le convenzioni utilizzate in ambiente di laboratorio, sul sistema e nella documentazione.

Simboli di salute e sicurezza sul lavoro

Questa sezione descrive alcuni simboli riguardanti la sicurezza e la salute sul lavoro presenti nella documentazione e in ambiente di laboratorio.

Tabella 2-1 Simboli di rischio chimico

Simbolo di Sicurezza	Definizione
	Rischio biologico
	Pericolo di esplosione
	Pericolo di esposizione ad agenti chimici tossici

Tabella 2-2 Simboli di avvertimento contro i rischi elettrici

Simbolo di Sicurezza	Definizione
	Pericolo di scosse elettriche

Tabella 2-3 Simboli di rischio: gas sotto pressione

Simbolo di Sicurezza	Definizione
	Pericolo di gas sotto pressione

Tabella 2-4 Simboli di rischio meccanico

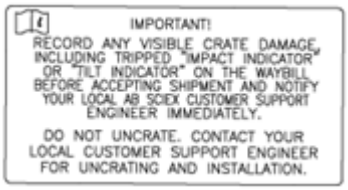
Simbolo di Sicurezza	Definizione
	Pericolo di superfici calde
	Pericolo di sollevamento
	Pericolo di perforazione
	Pericolo di radiazioni ionizzanti

Simboli, indicazioni ed etichette: imballaggio

Tabella 2-5 Etichette sul materiale di spedizione dello spettrometro di massa

Etichetta/Simbolo	Definizione
 o 	Indicatore di inclinazione Segnala se il contenitore è stato inclinato o trattato in modo inappropriato. Riportare il problema sulla Bolla di Consegna e controllare se ci sono stati danni. Ogni reclamo relativo al rovesciamento deve essere messo per iscritto.

Tabella 2-5 Etichette sul materiale di spedizione dello spettrometro di massa (continua)

Etichetta/Simbolo	Definizione
	Tenere in posizione verticale.
 o 	Indicatore di impatto Se l'indicatore scatta significa che il contenitore è stato fatto cadere o è stato trattato in modo inappropriato. Riportare il problema sulla Bolla di Consegna e controllare se ci sono stati danni.
	IMPORTANTE! ANNOTARE EVENTUALI DANNI VISIBILI ALLA CASSA INCLUSI EVENTUALMENTE "INDICATORE DI IMPATTO" O "INDICATORE DI INCLINAZIONE" SCATTATI SULLA LETTERA DI VETTURA PRIMA DI ACCETTARE LA SPEDIZIONE ED INFORMARE IMMEDIATAMENTE IL RESPONSABILE DELL'ASSISTENZA CLIENTI AB SCIEX DI ZONA. NON DISIMBALLARE. CONTATTARE IL RESPONSABILE DELL'ASSISTENZA CLIENTI DI ZONA PER IL DISIMBALLAGGIO E L'INSTALLAZIONE.
	Conservare all'asciutto.
	Fragile

Simboli, indicazioni ed etichette: spettrometro di massa

Fare riferimento a *Simboli del pannello a pagina 23* per maggiori informazioni.

Tabella 2-6 Etichette sullo spettrometro di massa

Etichetta	Definizione
	AVVERTENZA: non contiene parti riparabili dall'utente. Affidare la riparazione al personale qualificato. Fare riferimento alle istruzioni per l'uso.
	Non smaltire l'apparecchiatura nei residui comuni non differenziati (RAEE).
	AVVERTENZA: pericolo - superfici calde
	Fare riferimento alle istruzioni per l'uso.
	AVVERTENZA: Alta tensione - pericolo di scosse elettriche
	Messa a terra (protezione)
	Corrente alternata
	Collegamento Ethernet
A	Ampere (corrente)
V	Volt (tensione)

Tabella 2-6 Etichette sullo spettrometro di massa (continua)

Etichetta	Definizione
VA	Volt Ampere (potenza)
	AVVERTENZA: non azionare senza aver verificato che il tappo del flacone è ben chiuso.

Simboli e convenzioni presenti nella documentazione

Nella guida sono presenti i seguenti simboli e le seguenti convenzioni.

PERICOLO! La dicitura Pericolo indica un'azione che può causare infortuni gravi o fatali.

AVVERTENZA! La dicitura Avvertenza si riferisce a un'azione che potrebbe causare infortuni, se non si prendono le dovute precauzioni.

Attenzione: La dicitura Attenzione si riferisce a un'operazione che potrebbe causare danni al sistema o una perdita di dati, se non si prendono le dovute precauzioni.

Nota: La nota mette in risalto informazioni importanti in una procedura o in una descrizione.

Suggerimento! Il suggerimento fornisce informazioni utili che aiutano nell'applicazione di tecniche e procedure presenti nel testo per una specifica necessità, e contiene collegamenti a parti del testo, ma non è essenziale per il completamento di una procedura.

Principi di funzionamento 3

Panoramica del sistema

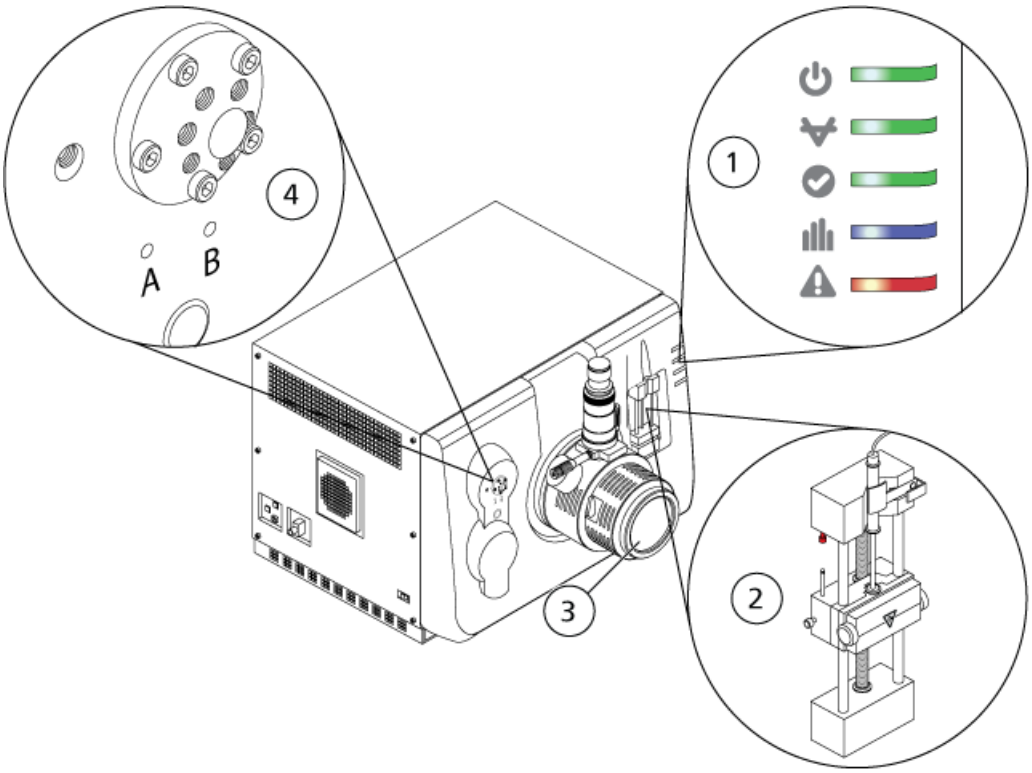
Il sistema è progettato per l'analisi qualitativa e quantitativa delle specie chimiche.

Il sistema comprende i seguenti componenti:

- Un sistema AB SCIEX Triple Quad™ 3500 LC/MS/MS con una sorgente di ionizzazione Turbo V™ che utilizza la sonda TurboIonSpray® o la sonda di ionizzazione chimica a pressione atmosferica, una pompa per vuoto e una sorgente di aria compressa e azoto.
- Computer e monitor AB SCIEX con software Analyst® per l'ottimizzazione dello strumento, lo sviluppo del metodo di acquisizione, l'acquisizione e l'elaborazione dei dati.

Panoramica dell'hardware

Figura 3-1 Vista frontale



Elemento	Descrizione	Fare riferimento a...
1	Simboli del pannello	*Simboli del pannello a pagina 23*
2	Pompa a siringa	*Regolare la Posizione della Pompa a Siringa Integrata a pagina 29*
3	Sorgente di ionizzazione Turbo V	*Guida per l'Operatore - Sorgente di Ionizzazione*
4	Valvola deviatrice	*Collegamento della valvola deviatrice in modalità deviatore a pagina 34*

Simboli del pannello

La *Tabella 3-1* descrive i LED di stato dello spettrometro di massa.

Tabella 3-1 Simboli del pannello

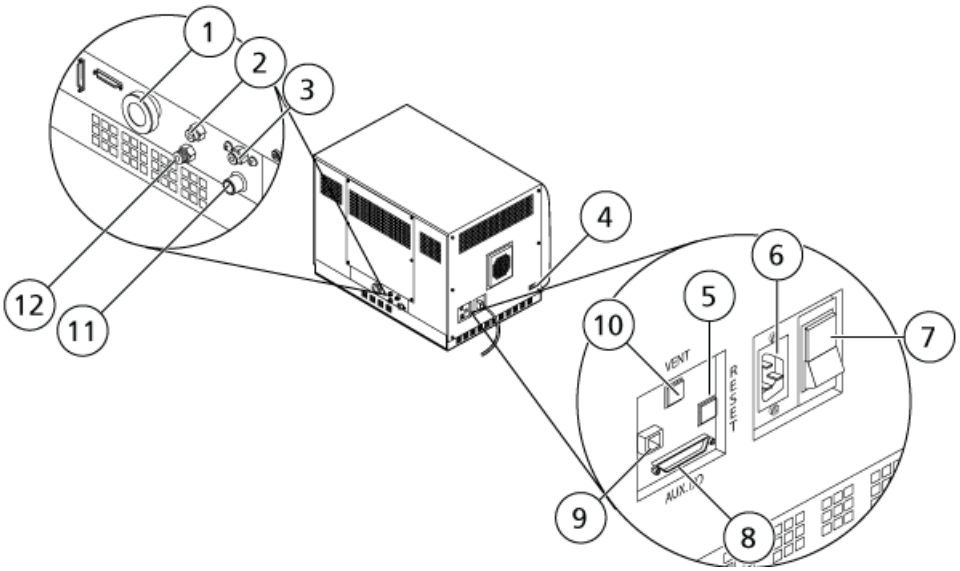
LED	Colore	Nome	Descrizione
	Verde	Acceso	Si accende quando il sistema è in funzione.
	Verde	Vuoto	Acceso quando è stato raggiunto il vuoto prestabilito. Lampeggia se il vuoto non si trova al valore prestabilito (durante la riduzione di pressione e lo spurgo).
	Verde	Pronto	Acceso quando il sistema è in stato di Ready. Il sistema deve essere in stato di Ready per iniziare le operazioni.
	Blu	Scansione in corso	Lampeggia quando il sistema sta acquisendo i dati.
	Rosso	Guasto	Si accende quando il sistema va incontro a un errore o un guasto.

Dopo l'accensione del sistema, tutti i LED si illuminano. Il LED Power resta acceso. Gli altri quattro LED lampeggiano per due secondi, poi si spengono. Il LED Vacuum comincia a lampeggiare. Dopo che il vuoto prestabilito è stato raggiunto, questo LED resta acceso.

Collegamenti

La *Figura 3-2* mostra la posizione dei collegamenti dello spettrometro di massa, comprese le posizioni dei pulsanti **RESET** (Ripristina) e **VENT** (Spurgo) e l'interruttore pratico dello spettrometro di massa.

Figura 3-2 Vista posteriore e laterale



Elemento	Descrizione	Per maggiori informazioni...
1	Innesto del vuoto della pompa primaria	Contattare un Responsabile dell'Assistenza Tecnica (FSE).
2	Erogazione gas azoto (erogazione Curtain Gas™, gas CAD)	Contattare un Responsabile dell'Assistenza Tecnica (FSE).
3	Innesto di scarico della sorgente	Contattare un Responsabile dell'Assistenza Tecnica (FSE).
4	Connettore di comunicazione della sorgente	Contattare un Responsabile dell'Assistenza Tecnica (FSE).
5	Pulsante **RESET** (Ripristina)	Fare riferimento a *Ripristino dello spettrometro di massa a pagina 28*.
6	Connessione rete elettrica	Fare riferimento a *Avvio del sistema a pagina 27* o *Arresto del sistema a pagina 28*.
7	Interruttore pratico dello spettrometro di massa (Su = On; Giù = Off)	Fare riferimento a *Avvio del sistema a pagina 27* o *Arresto del sistema a pagina 28*.
8	Connettore I/O Aux	Fare riferimento a *Guida alla Configurazione delle Periferiche*.
9	Collegamento Ethernet (collega lo spettrometro di massa e il computer)	Contattare un Responsabile dell'Assistenza Tecnica (FSE).

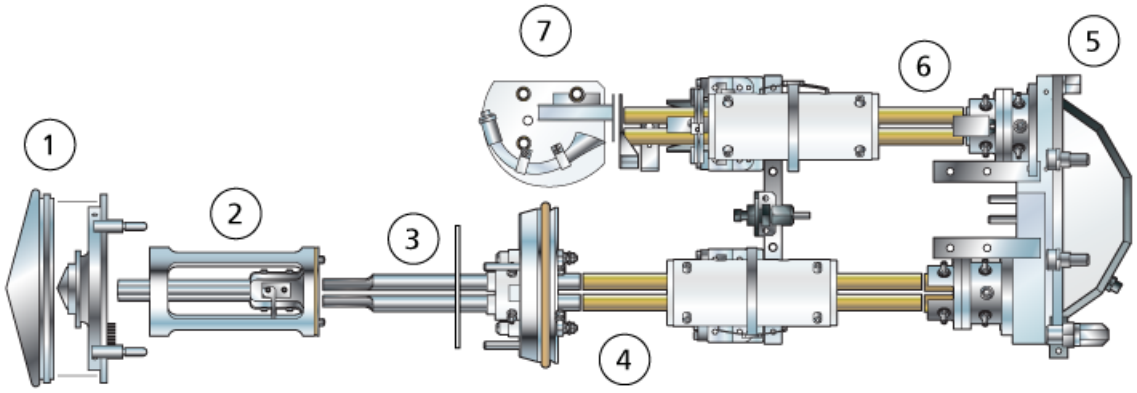
Elemento	Descrizione	Per maggiori informazioni...
10	Pulsante **VENT** (Spurgo)	Fare riferimento a *Avvio del sistema a pagina 27* o *Arresto del sistema a pagina 28*.
11	Scarico residuo della sorgente (al contenitore per raccolta residui)	Contattare un Responsabile dell'Assistenza Tecnica (FSE).
12	Innesto erogazione aria (Gas1/Gas2)	Contattare un Responsabile dell'Assistenza Tecnica (FSE).

Principi teorici di funzionamento

La spettrometria di massa misura il rapporto massa/carica degli ioni per identificare composti sconosciuti, per quantificare composti noti e per fornire informazioni sulle proprietà strutturali e chimiche delle molecole.

Lo spettrometro di massa dispone di una serie di filtri quadrupoli che trasmettono gli ioni secondo il loro rapporto massa/carica *m/z*. Il primo quadrupolo in questa serie è la guida di ionizzazione QJet® situata tra il separatore di vuoto e la regione Q0. La guida ionica QJet non filtra gli ioni, ma li focalizza prima che entrino nella regione del Q0. Focalizzando preventivamente il flusso di ioni creato dall'orifizio più largo, la guida ionica Qjet aumenta la sensibilità del sistema e migliora il rapporto segnale-rumore. Gli ioni sono nuovamente focalizzati nella regione del Q0 prima che passino nel quadrupolo Q1.

Figura 3-3 Percorso ioni



Elemento	Descrizione
1	Separatore di vuoto
2	Guida ionica QJet
3	Regione del Q0
4	Quadrupolo Q1

Elemento	Descrizione
5	Camera di collisione Q2
6	Quadrupolo Q3
7	Rivelatore

Il quadrupolo Q1 è un quadrupolo filtrante che ordina gli ioni prima che gli stessi entrino nella camera di collisione Q2. La camera di collisione Q2 è il luogo in cui l'energia interna di uno ione aumenta attraverso la collisione con le molecole di gas, al punto da rompere i legami molecolari creando ioni prodotto. Questa tecnica permette agli utenti di progettare esperimenti che misurano il rapporto *m/z* degli ioni prodotto, in modo da determinare la composizione degli ioni genitori.

Dopo il passaggio attraverso la camera di collisione Q2, gli ioni entrano nel quadrupolo Q3 per un filtraggio supplementare e infine sono immessi nel rivelatore. Nel rivelatore gli ioni creano una corrente che viene convertita in un impulso di tensione. Gli impulsi di tensione in uscita dal rivelatore sono direttamente proporzionali alla quantità di ioni che entrano nel rivelatore. Il sistema osserva questi impulsi di tensione e converte le informazioni in un segnale. Il segnale rappresenta l'intensità dello ione per un particolare valore di *m/z* e il sistema visualizza questa informazione per mezzo di uno spettro di massa.

Gestione dei dati

Il software Analyst® necessita di un computer con installato il sistema operativo Windows. Il computer, con il software di sistema incluso, usa il controller di sistema e il firmware associato per controllare il sistema e l'acquisizione dei dati. Durante il funzionamento del sistema, i dati acquisiti sono inviati al software Analyst dove possono essere visualizzati in forma di spettri di massa completi, di intensità degli ioni singoli o multipli rispetto al tempo, o corrente di ionizzazione totale rispetto al tempo.

Istruzioni operative—Hardware 4

Avvio del sistema

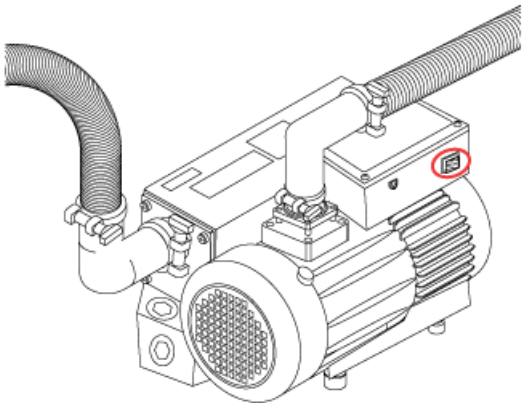
AVVERTENZA! Pericolo di sollevamento: non spostare il sistema. Rischio di infortunio o danni al sistema. Se il sistema deve essere spostato, contattare un Responsabile dell'Assistenza Tecnica (FSE).

Nota: Prima di usare il sistema, leggere le *Precauzioni operative e limitazioni a pagina 7*.

Prima che il sistema sia avviato, assicurarsi che tutti i requisiti specificati nella *Guida alla Pianificazione del Sito* siano soddisfatti. La *Guida alla Pianificazione del Sito* comprende informazioni sulle connessioni alla rete elettrica, sullo scarico della sorgente di ionizzazione, l'aria compressa, l'azoto, le pompe per vuoto, la ventilazione, gli scarichi e gli spazi liberi del sito.

1. Garantire il libero accesso al connettore della rete elettrica. Il connettore deve essere accessibile per poter scollegare lo spettrometro di massa dalla rete elettrica.
2. Assicurarsi che il gas di scarico della sorgente di ionizzazione, l'aria compressa e i gas di azoto siano collegati allo spettrometro di massa.
3. Assicurarsi che il contenitore di scarico da 4 L sia connesso all'uscita Exhaust Waste (Scarico residui) sul retro dello spettrometro di massa e al sistema di ventilazione del laboratorio.
4. Verificare che i tubi di scarico sorgente siano bloccati in modo sicuro ai collegamenti di spettrometro di massa, contenitore di raccolta e ventilazione.
5. Assicurarsi che l'interruttore pratico dello spettrometro di massa sia spento e che il cavo di alimentazione sia collegato allo spettrometro di massa.
6. Assicurarsi che i cavi di alimentazione dello spettrometro di massa e della pompa per vuoto siano inseriti nelle prese da 200 V CA a 240 V CA della rete elettrica.
7. Assicurarsi che il cavo Ethernet sia collegato allo spettrometro di massa e al computer.
8. Accendere la pompa per vuoto. L'interruttore di alimentazione (On/Off) si trova accanto all'attacco dell'ingresso di alimentazione della rete elettrica sulla pompa per vuoto.

Figura 4-1 Pompa per vuoto primaria—Interruttore On/Off



9. Attendere cinque minuti, quindi accendere l'interruttore pratico dello spettrometro di massa.
10. Accendere il computer.

Ripristino dello spettrometro di massa

1. Interrompere le eventuali scansioni in corso e disattivare il flusso del campione verso lo spettrometro di massa.
2. Nel software Analyst® , disattivare il profilo hardware, se attivo.
3. Premere e tenere premuto il tasto **Reset** per cinque secondi.

   Si avvertirà un clic quando si attiva il relé. Dopo circa tre minuti lo spettrometro di massa dovrebbe raggiungere la pressione di esercizio.

Arresto del sistema

Suggerimento! Se lo spettrometro di massa non viene usato per un determinato periodo di tempo, si consiglia di lasciarlo in standby con la sorgente di ionizzazione in posizione. Se lo spettrometro di massa deve essere disattivato, procedere come indicato di seguito. Spegnere la pompa per vuoto solo quando le pompe turbo sono ferme.

1. Completare o arrestare tutte le scansioni in uscita.
2. Arrestare il flusso del campione verso il sistema.

   Attenzione: Rischio di danni al sistema: arrestare il flusso del campione prima che il sistema venga spento.

3. Nel software Analyst® , disattivare il profilo hardware, se attivo.

4. Chiudere il software.
5. Premere e tenere premuto il tasto **Vent** per tre secondi.

   La rotazione della pompa turbo diminuirà gradualmente.
6. Attendere 15 minuti.
7. Spegnere la pompa per vuoto.

   L'interruttore di alimentazione (On/Off) si trova accanto all'attacco dell'ingresso di alimentazione della rete elettrica sulla pompa per vuoto.
8. Attendere 15 minuti, quindi spegnere l'interruttore pratico dello spettrometro di massa.
9. Staccare il cavo di rete CA dall'alimentazione elettrica o il connettore di alimentazione dall'ingresso dell'apparecchio per scollegare lo spettrometro di massa dalla rete elettrica.
10. Staccare il cavo di alimentazione CA della pompa per vuoto dalla presa della rete elettrica.

Collegamento dello spettrometro di massa

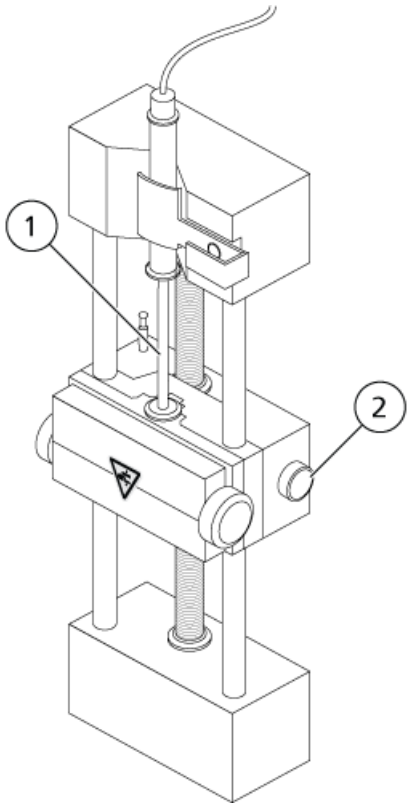
AVVERTENZA! Rischio di lesioni personali: assicurarsi che la siringa sia nella giusta posizione all'interno della relativa pompa e che il fine corsa automatico della pompa a siringa sia regolato correttamente in modo da evitare di danneggiare o rompere la siringa in vetro.

Regolare la Posizione della Pompa a Siringa Integrata

AVVERTENZA! Pericolo di Perforazione: prestare la massima attenzione durante l'inserimento della siringa. La punta della siringa è estremamente acuminata.

1. Premere il pulsante **Release** sul lato destro della pompa a siringa per abbassare la base e inserire la siringa. Fare riferimento alla *Figura 4-2*.
2. Assicurarsi che l'estremità della siringa sia a filo con la base e che il poggiadita della siringa sia posizionato nella fessura.

Figura 4-2 Abbassamento della siringa

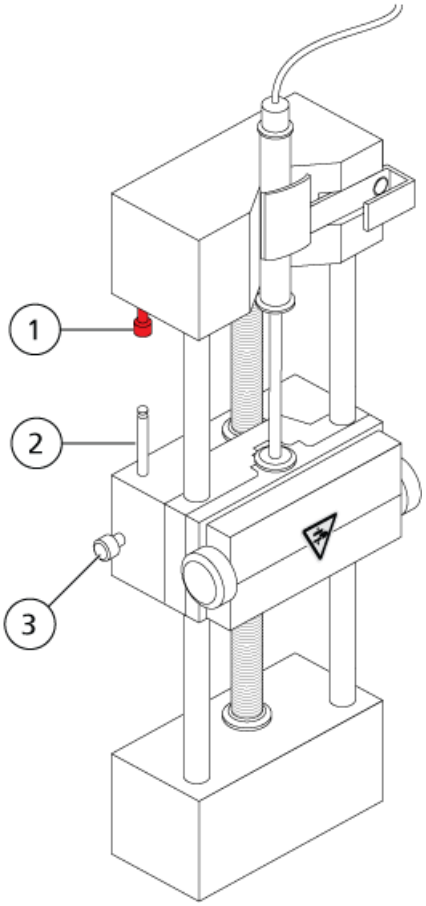


Elemento	Descrizione
1	Stantuffo della siringa
2	Pulsante Release. Premere per alzare o abbassare la base.

AVVERTENZA! Rischio di lesioni personali: assicurarsi che la siringa sia nella giusta posizione all'interno della relativa pompa e che il fine corsa automatico della pompa a siringa sia regolato correttamente in modo da evitare di danneggiare o rompere la siringa in vetro.

3. Regolare il perno in modo che possa azionare il fine corsa automatico della siringa prima che lo stantuffo colpisca il fondo della siringa in vetro. Fare riferimento alla *Figura 4-3*.

Figura 4-3 Fine corsa automatico della siringa

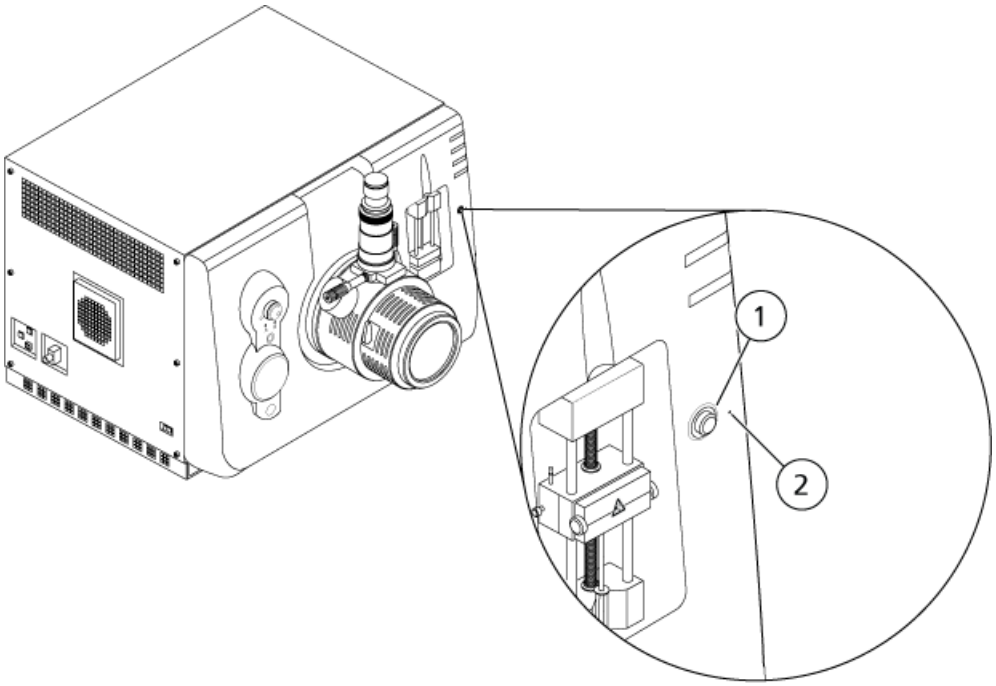


Elemento	Descrizione
1	Fine corsa automatico della siringa. Quando il perno colpisce il fine corsa automatico della siringa, la pompa a siringa si arresta.
2	Perno. Regolare l'altezza in modo tale che lo stantuffo della siringa non colpisca la siringa durante l'infusione del campione.
3	Vite di bloccaggio del perno. Serrare la vite dopo che l'altezza del perno è stata regolata.

4. Assicurarsi che lo spettrometro di massa e la sorgente di ionizzazione siano abilitati nel software.

Nota: In caso di utilizzo successivo, nello spettrometro di massa premere il pulsante sul lato destro della pompa a siringa per avviare il flusso. Fare riferimento alla *Figura 4-4*. Il LED accanto al pulsante lampeggia quando la pompa a siringa è in uso.

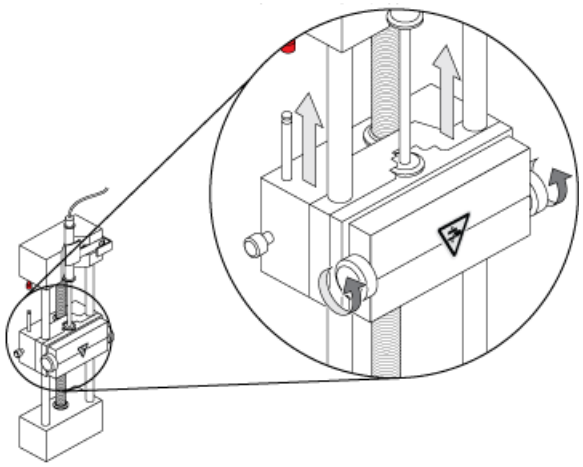
Figura 4-4 LED pompa a siringa



Elemento	Descrizione
1	Pulsante di accensione e spegnimento della pompa a siringa
2	LED di stato della pompa a siringa

5. Girare le viti laterali come mostrato nella *Figura 4-5* per fissare la siringa.

Figura 4-5 Viti per pompa a siringa



6. Nel software Analyst® , sulla barra di navigazione, fare doppio clic su **Manual Tuning** (Sintonizzazione manuale).
7. Fare clic su **Start Syringe** (Avvia siringa).
8. Per arrestare la pompa a siringa, fare clic su **Stop Syringe** (Arresta siringa).

Collegamento della valvola deviatrice in modalità iniettore

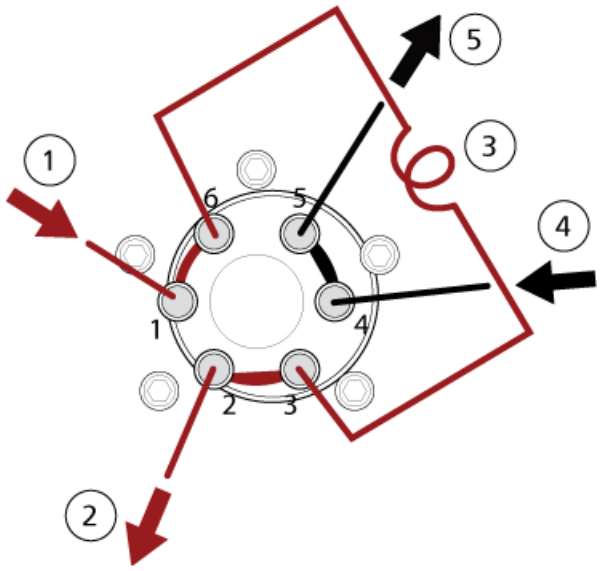
La valvola deviatrice è una valvola a due posizioni con sei attacchi. Può essere collegata in modalità iniettore o in modalità deviatore. Per configurare la valvola, accedere alla scheda **Configuration** (Configurazione) e verificare che la casella di controllo **Use integrated injector/diverter valve** (Usa iniettore integrato/valvola deviatrice) sia selezionata. Fare riferimento a *Aggiunta di dispositivi a un profilo hardware a pagina 41*.

Attenzione: Pericolo di errori nei risultati: il pulsante della valvola deviatrice è attivo durante un'esecuzione. Se si preme il pulsante durante un'esecuzione, potrebbero essere generati dati non corretti.

Se la valvola è in Posizione A, il campione scorre attraverso il loop esterno. Fare riferimento alla *Figura 4-8*. Quando la valvola passa in Posizione B, il campione viene iniettato. Fare riferimento a *Figura 4-9*.

- Collegare la valvola per la modalità iniettore.

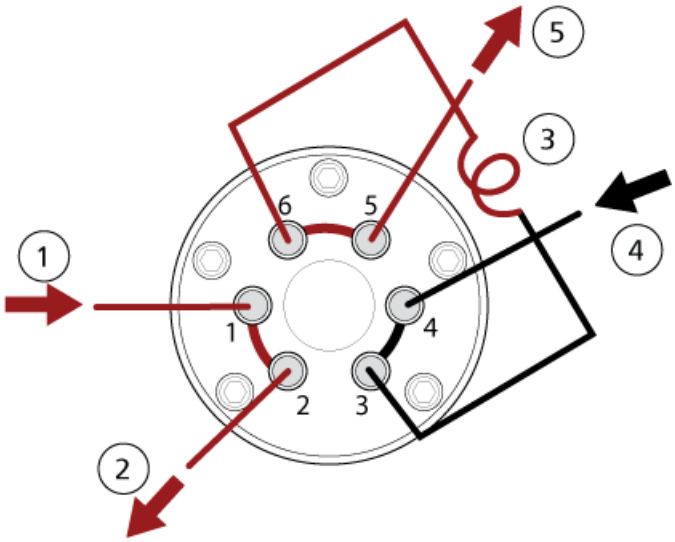
Figura 4-6 Valvola deviatrice—modalità iniettore posizione A



Elemento	Descrizione
1	Ingresso campione
2	Uscita residuo
3	Loop del campione (porte 3 e 6)

Elemento	Descrizione
4	Ingresso fase mobile
5	Alla colonna

Figura 4-7 Valvola deviatrice—modalità iniettore posizione B



Elemento	Descrizione
1	Ingresso campione
2	Uscita residuo
3	Loop del campione
4	Ingresso fase mobile
5	Alla colonna

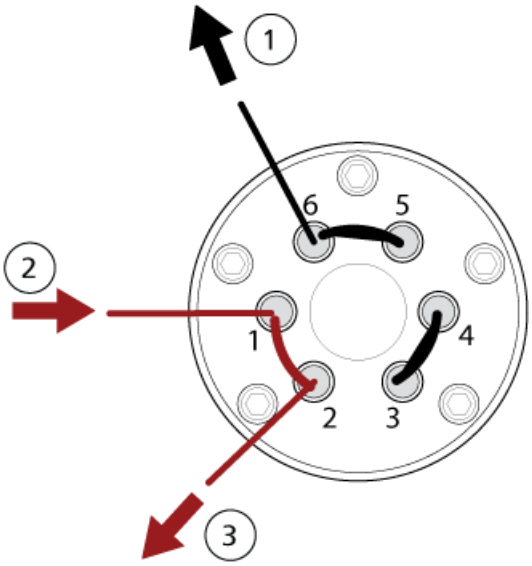
Collegamento della valvola deviatrice in modalità deviatore

La valvola deviatrice può essere collegata in modalità iniettore o in modalità deviatore. Per configurare la valvola, accedere alla scheda **Configuration** (Configurazione) e verificare che la casella di controllo **Use integrated injector/diverter valve** (Usa iniettore integrato/valvola deviatrice) sia selezionata. Fare riferimento a *Aggiunta di dispositivi a un profilo hardware a pagina 41*.

Attenzione: Pericolo di errori nei risultati: il pulsante della valvola deviatrice è attivo durante un'esecuzione. Se si preme il pulsante durante un'esecuzione, potrebbero essere generati dati non corretti.

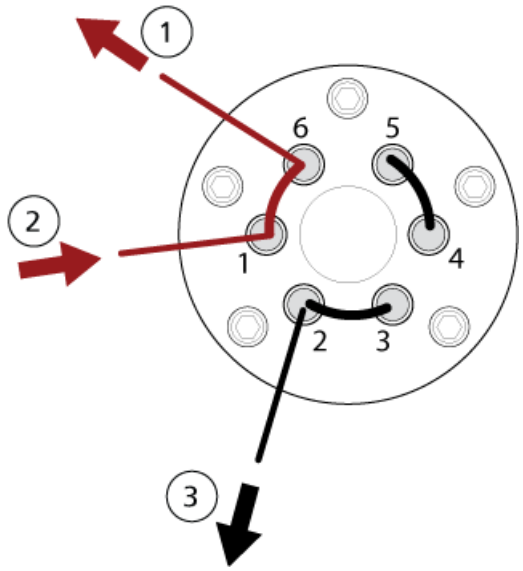
- Collegare la valvola per la modalità deviatore. Se la valvola è in Posizione A, il campione scorre attraverso il loop esterno. Fare riferimento alla *Figura 4-8*. Quando la valvola passa in Posizione B, il campione viene iniettato. Fare riferimento alla *Figura 4-9*.

Figura 4-8 Valvola deviatrice—modalità deviatore posizione A



Elemento	Descrizione
1	Allo spettrometro di massa
2	Dalla colonna
3	Uscita residuo

Figura 4-9 Valvola deviatrice—modalità deviatore posizione B



Elemento	Descrizione
1	Allo spettrometro di massa
2	Dalla colonna
3	Uscita residuo

Istruzioni operative — Profili hardware e progetti 5

Profili hardware

Un profilo hardware indica al software come sono configurati e collegati al computer lo spettrometro di massa e i dispositivi.

Ogni profilo hardware deve includere uno spettrometro di massa. Prima di creare un metodo di acquisizione, assicurarsi che tutti i dispositivi usati nel metodo siano inclusi nel profilo hardware. Nelle opzioni di configurazione per lo spettrometro di massa, assicurarsi che la pompa a siringa sia abilitata se dovrà essere usata durante l'acquisizione.

I dispositivi configurati nel profilo hardware attivo e selezionati nella finestra di dialogo **Add/Remove Device Method** (Aggiungi/Rimuovi metodo dispositivo) compaiono come icone nel riquadro **Acquisition Method** (Metodo di acquisizione). Solo i dispositivi inclusi nel profilo hardware attivo possono essere usati per creare metodi di acquisizione.

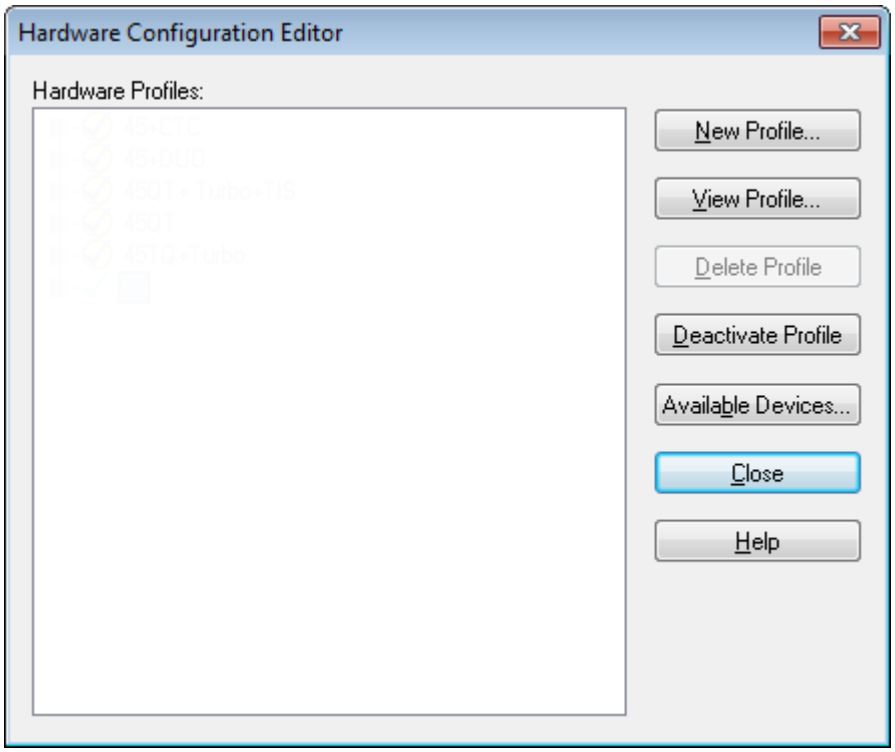
Per maggiori informazioni sull'impostazione delle connessioni fisiche ai dispositivi, fare riferimento alla *Guida alla Configurazione delle Periferiche*. Per un elenco dei dispositivi supportati, fare riferimento alla *Guida all'Installazione del Software* per il software Analyst® .

Creazione di un profilo hardware

L'utente può creare diversi profili hardware, ma solo un profilo alla volta può essere attivo.

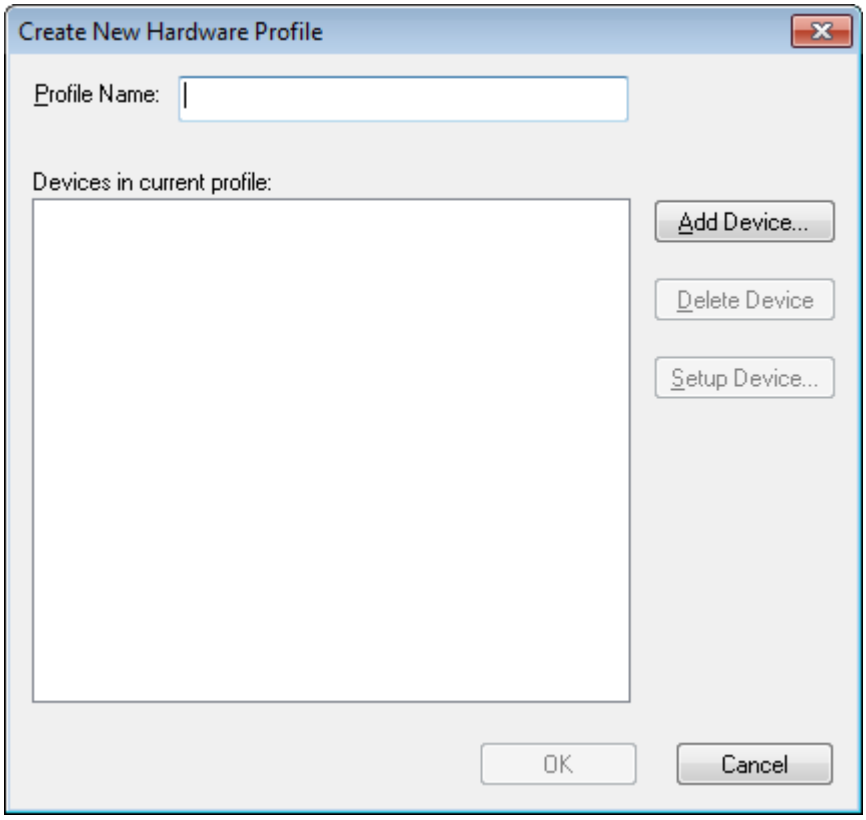
1. Sulla barra di navigazione, alla voce **Configure** (Configura), fare doppio clic su **Hardware Configuration** (Configurazione hardware).

Figura 5-1 Finestra di dialogo Hardware Configuration Editor (Editor di configurazione hardware)



2. Fare clic su **New Profile** (Nuovo profilo).

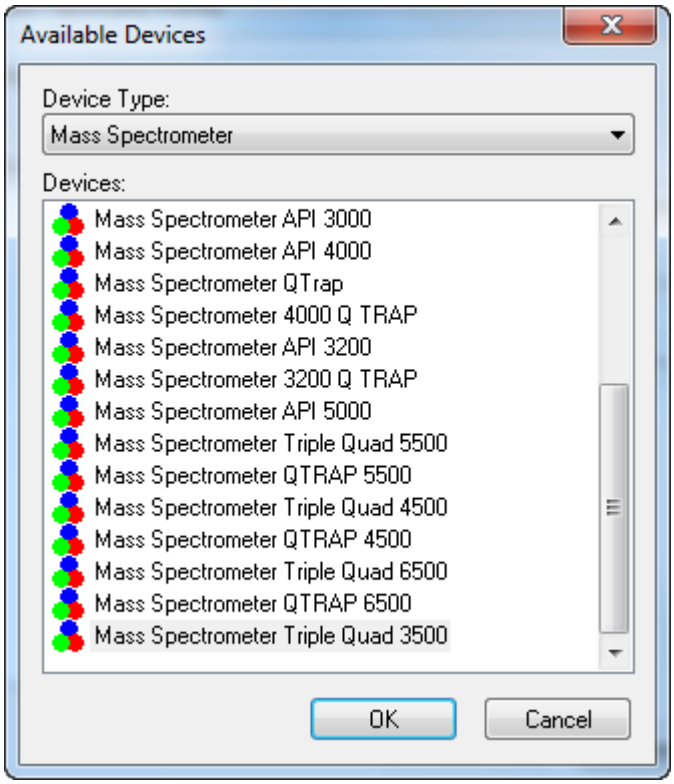
Figura 5-2 Finestra di dialogo Create New Hardware Profile (Crea nuovo profilo hardware)



3. Digitare un nome nel campo **Profile Name** (Nome profilo).
4. Fare clic su **Add Device**.

   Nella finestra di dialogo **Available Devices** (Dispositivi disponibili), nel campo **Device Type** (Tipo dispositivo), il valore preimpostato è **Mass Spectrometer** (Spettrometro di massa).
5. Selezionare lo spettrometro di massa dall'elenco **Devices** (Dispositivi).
6. Fare clic su **OK**.
7. Selezionare lo spettrometro di massa dall'elenco **Devices in current profile** (Dispositivi nel profilo corrente).

Figura 5-3 Finestra di dialogo Available Devices (Dispositivi disponibili)



8. Fare clic su **Setup Device** (Configura dispositivo).
9. (Opzionale) Per configurare lo spettrometro di massa per la pompa a siringa integrata, nella scheda **Configuration** (Configurazione), selezionare la casella di controllo **Use integrated syringe pump** (Usa pompa a siringa integrata).

AVVERTENZA! Rischio di lesioni personali: assicurarsi che la siringa sia nella giusta posizione all'interno della relativa pompa e che il fine corsa automatico della pompa a siringa sia regolato correttamente in modo da evitare di danneggiare o rompere la siringa in vetro.

10. Selezionare altre funzioni sulle schede **Configuration** (Configurazione) e **Communication** (Comunicazione) come richiesto.
11. Fare clic su **OK** per ritornare alla finestra di dialogo **Create New Hardware Profile** (Crea nuovo profilo hardware).
12. Aggiungere e configurare ogni dispositivo che sarà usato con lo spettrometro di massa.
13. Fare clic su **OK** nella finestra di dialogo **Create New Hardware Profile** (Crea nuovo profilo hardware).
14. Fare clic sul profilo hardware nell'**Hardware Configuration Editor** (Editor di configurazione hardware).
15. Fare clic su **Activate Profile** (Attiva profilo).

Il segno di spunta diventa verde. Se appare una x rossa, si è verificato un problema con l'attivazione del profilo hardware.

Suggerimento! Un profilo hardware non deve essere disattivato prima di attivarne un altro. Fare clic su un profilo hardware e poi su **Activate Profile**. L'altro profilo sarà automaticamente disattivato.

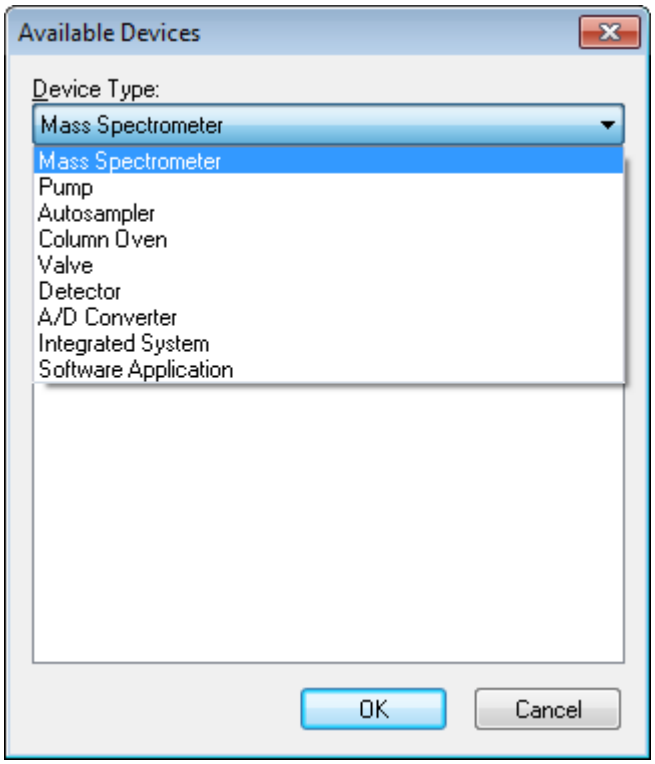
16. Fare clic su **Close**.

Aggiunta di dispositivi a un profilo hardware

I dispositivi devono essere configurati per far sì che il software possa comunicare con loro. Quando si installa il software, si installano anche i driver necessari per ogni dispositivo. Dopo che i dispositivi sono stati connessi fisicamente al computer, configurare ogni dispositivo.

1. Aprire l'**Hardware Configuration Editor** (Editor di configurazione hardware).
2. Nell'elenco **Hardware Profiles** (Profili hardware), disattivare il profilo hardware.
3. Fare clic su **Edit Profile** (Modifica profilo).
4. Fare clic su **Add Device** (Aggiungi dispositivo).
5. Nella finestra di dialogo **Available Devices** (dispositivi disponibili), selezionare il dispositivo nell'elenco **Device Type** (Tipo dispositivo).

Figura 5-4 Finestra di dialogo Available Devices (Dispositivi disponibili)



6. Fare clic su **OK**.

7. Selezionare il dispositivo dall'elenco **Devices in current profile** (Dispositivi nel profilo corrente).
8. Fare clic su **Setup Device** (Configura dispositivo).

   Si aprirà una finestra di dialogo che contiene i valori di configurazione per il dispositivo.
9. (Opzionale) Nella scheda **Communication** (Comunicazione), nel campo **Alias** (Alias), immettere un nome o un altro identificativo.

   Nota: Per i dispositivi che utilizzano la comunicazione seriale, assicurarsi che la porta seriale selezionata corrisponda alla porta seriale a cui il dispositivo è fisicamente collegato. Se si utilizza un cavo di espansione seriale, il numero selezionato nel profilo è il numero sul cavo più due.

   Nota: Il campo **Alias** (Alias) potrebbe anche essere denominato **Name** (Nome) e potrebbe trovarsi su un'altra scheda, alla voce **Alias** (Alias).

   - Se il dispositivo utilizza una **Serial Port** (Porta seriale) come interfaccia di comunicazione, selezionare la porta COM alla quale il dispositivo è collegato nell'elenco **COM Port Number** (Numero porta COM).
   - Se il dispositivo utilizza la **Ethernet** come interfaccia di comunicazione, digitare l'**indirizzo IP** assegnato al dispositivo dall'amministratore o utilizzare il **nome host** corrispondente all'indirizzo.
   - Se il dispositivo utilizza una **scheda GPIB** come interfaccia di comunicazione, non modificare le impostazioni per la scheda GPIB.

   Il resto dei valori preimpostati per il dispositivo sono probabilmente adeguati. Non modificarli. Per informazioni sulle schede **Configuration** (Configurazione) e **Communication** (Comunicazione), fare riferimento al menu Help (Guida).
10. Per ripristinare i valori preimpostati dei dispositivi, fare clic su **Set Defaults** (Imposta valori preimpostati) nella scheda **Communication** (Comunicazione).
11. Per salvare la configurazione fare clic su **OK**.
12. Ripetere i passi da *4* a *11* per ogni dispositivo.
13. Fare clic su **OK** nella finestra di dialogo **Create New Hardware Profile** (Crea nuovo profilo hardware).
14. Per attivare il profilo hardware, fare clic sul profilo in **Hardware Configuration Editor**.
15. Fare clic su **Activate Profile** (Attiva profilo).

    Il segno di spunta diventa verde. Se appare una x rossa, si è verificato un problema con l'attivazione del profilo hardware. Per ulteriori informazioni, fare riferimento a *Risoluzione dei problemi - Attivazione di un profilo hardware a pagina 43*.

    Suggerimento! Un profilo hardware attivo non deve essere disattivato prima di attivarne un altro. Fare clic su un profilo hardware disattivo e poi su **Activate Profile** (Attiva profilo). L'altro profilo sarà automaticamente disattivato.
16. Fare clic su **Close**.

Risoluzione dei problemi - Attivazione di un profilo hardware

Se non si riesce ad attivare un profilo hardware, apparirà una finestra di dialogo che indica quale dispositivo nel profilo presenta dei problemi. La mancata riuscita potrebbe essere dovuta a errori nella comunicazione.

1. Leggere il messaggio d'errore generato. In base alla natura del messaggio, potrebbe esserci un problema con un dispositivo o nell'impostazione della comunicazione.
2. Verificare che il dispositivo sia alimentato e sia acceso.
3. Verificare che la porta COM assegnata al dispositivo sia corretta.
4. Verificare che le impostazioni di comunicazione con il dispositivo (ad esempio, le impostazioni del DIP switch) siano definite correttamente e corrispondano alle impostazioni riportate sulla scheda **Communication** (Comunicazione).
5. Spegnere il dispositivo.
6. Attendere 10 secondi.
7. Accendere il dispositivo.

   Attendere fino a quando tutte le attività di avviamento del dispositivo siano state completate prima di tentare nuovamente l'attivazione del profilo hardware. Alcuni dispositivi potrebbero richiedere 30 secondi o più per completare l'avviamento.
8. Attivare il profilo hardware.
9. Se il problema persiste, eliminare il profilo non funzionante e crearne uno nuovo.
10. Se il problema persiste, contattare l'assistenza tecnica.

Progetti e sottoprogetti

Creazione di progetti e sottoprogetti

Per creare una struttura a sottoprogetti all'interno di un progetto, definire la struttura a sottoprogetti nel momento in cui si crea il progetto.

1. Fare clic su **Tools > Project > Create Project** (Strumenti > Progetto > Crea progetto).
2. Scrivere il nome del progetto nel campo **Project name** (Nome progetto).
3. (Opzionale) Per usare i sottoprogetti, selezionare le cartelle in questione e poi usare i tasti freccia per spostarli nell'elenco **Subproject folders** (Cartelle sottoprogetto).
4. (Se si utilizzano dei sottoprogetti) Nel campo **Subproject name** (Nome sottoprogetto), immettere un nome per il primo sottoprogetto o usare la data già impostata.
5. (Opzionale) Per impostare questa organizzazione in progetti e sottoprogetti come base per tutti i nuovi progetti, selezionare la casella di controllo **Set configuration as default for new projects** (Imposta configurazione come predefinita per nuovi progetti).

   Tutti i nuovi progetti saranno creati con le cartelle configurate in questo modo.
6. Fare clic su **OK**.

Creazione di sottoprogetti

I sottoprogetti possono essere creati solo in un progetto che è stato già impostato per contenere sottoprogetti.

1. Selezionare il progetto nella barra degli strumenti **Project** (Progetto), nell'elenco **Project**.
2. Fare clic su **Tools > Project Create Subproject** (Strumenti - Progetto - Crea sottoprogetto).
3. Nella casella **Subproject name** (Nome sottoprogetto), inserire un nome per il sottoprogetto o usare la data esistente.
4. Fare clic su **OK**.

Copia dei sottoprogetti

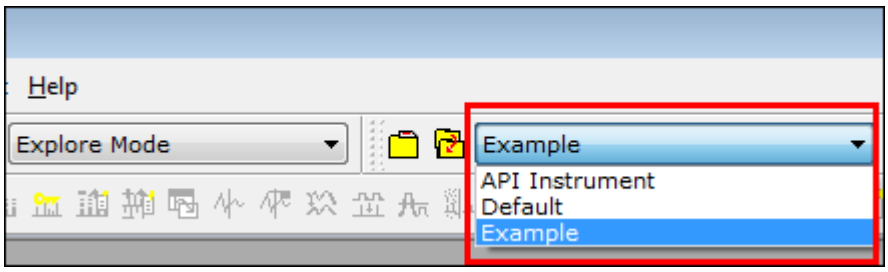
Un sottoprogetto può essere copiato da un altro progetto che contiene già dei sottoprogetti. Se i sottoprogetti copiati contengono cartelle che esistono anche nella cartella del progetto, il software userà le cartelle al livello del progetto.

1. Fare clic su **Tools > Project Copy Subproject (Strumenti-Progetto-Copia sottoprogetto).**
2. Fare clic su **Browse** (Sfoglia) per raggiungere la sorgente del sottoprogetto nella finestra di dialogo **Copy Subproject** (Copia sottoprogetto).
3. Fare clic su **OK**.
4. Selezionare il sottoprogetto nell'elenco **Source Subproject** (Sottoprogetto sorgente).
5. Fare clic su **Browse** (Sfoglia) per navigare nella cartella di destinazione del sottoprogetto.
6. Inserire il nome nel campo **Target Subproject** (Sottoprogetto destinazione).
7. Fare clic su **OK**.
8. Compiere una delle seguenti operazioni:
   - Per copiare tutte le cartelle e i file dalla **Subproject Source** (Sorgente sottoprogetto) nella **Subproject Destination** (Destinazione sottoprogetto), spuntare la casella **Copy Contents** (Copia contenuti).
   - Per copiare solo la struttura delle cartelle e non il contenuto nella cartella **Subproject Destination** (Destinazione sottoprogetto), assicurarsi che la casella **Copy Contents** (Copia contenuti) non sia spuntata.
9. Fare clic su **Copy**.

Commutazione tra progetti e sottoprogetti

- Nella barra degli strumenti del software, dall'elenco dei progetti, fare clic sul progetto o sottoprogetto richiesto.

Figura 5-5 Elenco progetti



L'elenco progetti in questa figura mostra le cartelle **API Instrument** (Strumento API), **Default** (Predefinito) e **Example** (Esempio).

Cartelle di progetto installate

Con il software saranno installate tre cartelle di progetto: **API Instrument** (Strumento API), **Default** (Predefinito) ed **Example** (Esempio).

Cartella API Instrument

La cartella **API Instrument** (Strumento API) è una cartella unica ed è molto importante per il corretto funzionamento dello spettrometro di massa. La cartella **API Instrument** (Strumento API) contiene le informazioni richieste per sintonizzare e calibrare lo spettrometro di massa. Queste informazioni comprendono i file di impostazioni dei parametri, i file di riferimento, i file di dati dello strumento che contengono informazioni sulla calibrazione e la risoluzione, nonché le modalità di acquisizione utilizzate durante la sintonizzazione automatica. La cartella **API Instrument** (Strumento API) contiene anche file di dati per le attività di sintonizzazione manuale, che sono state eseguite usando il pulsante **Start** e non il pulsante **Acquire** (Acquisisci). Questi file di dati sono salvati automaticamente nella cartella **API Instrument** (Strumento API) nella cartella **Tuning Cache** (Cache sintonizzazione). La cartella **Tuning Cache** (Cache sintonizzazione) viene cancellata automaticamente a intervalli regolari.

Cartella Default

La cartella **Default** (Predefinita) contiene le cartelle che sono presenti nei nuovi progetti e serve come modello per i nuovi progetti.

Cartella Example

La cartella **Example** (Esempio) contiene metodi e file di dati di esempio. Gli utenti possono fare pratica lavorando in modalità **Explore** (Esplora) o **Quantitate** (Quantificazione) usando i file di dati di esempio. I file di esempio sono ordinati in sottocartelle per tipo di spettrometro di massa e applicazione.

Backup della cartella API Instrument

Eseguire il backup della cartella **API Instrument** (Strumento API) con regolarità e dopo l'esecuzione della manutenzione ordinaria.

- Copiare la cartella **API Instrument** (Strumento API), incollarla in un'altra posizione, preferibilmente un altro computer, quindi rinominare la cartella. Quando si rinomina la cartella, usare la data e un riferimento

dello spettrometro di massa qualora ve ne sia più di uno. Per recuperare la cartella, rinominare la cartella **API Instrument** (Strumento API) corrente, copiare la cartella di backup nella cartella **Projects** (Progetti) e modificare il nome della cartella di backup in **API Instrument** (Strumento API).

Recupero della cartella API Instrument

Eseguire il backup della cartella **API Instrument** (Strumento API) con regolarità e dopo l'esecuzione della manutenzione ordinaria.

1. Rinominare la cartella corrente **API Instrument** (Strumento API).
2. Copiare la cartella di backup nella cartella **Projects** (Progetti).
3. Cambiare il nome della cartella di backup in **API Instrument** (Strumento API).

Istruzioni Operative — Sintonizzazione e calibrazione 6

Materiali richiesti
• Soluzioni per la sintonizzazione che sono fornite nel Kit di Prodotti Chimici Standard consegnati assieme al sistema. Un nuovo kit può essere ordinato presso AB SCIEX, se necessario. • Tubo del campione PEEK rosso.

Prerequisiti
• La nebulizzazione deve essere stabile ed è necessario utilizzare la soluzione per la sintonizzazione corretta.

Ottimizzazione dello spettrometro di massa

La seguente procedura illustra come verificare le prestazioni dello spettrometro di massa. Per ulteriori informazioni sull'uso delle altre opzioni sulle prestazioni dello strumento, fare riferimento al menu Help.

1. Nella barra di navigazione, in **Tune and Calibrate** (Sintonizzazione e calibrazione), fare doppio clic su **Manual Tuning** (Sintonizzazione manuale).
2. Lanciare un metodo di calibrazione e verificare che il cromatogramma ionico totale (TIC) sia stabile e che i picchi di interesse siano presenti nello spettro.
3. Sulla barra di navigazione, alla voce **Tune and Calibrate** (Sintonizza e calibra), fare doppio clic su **Instrument Optimization** (Ottimizzazione strumento).

   Si aprirà la finestra di dialogo **Instrument Optimization** (Ottimizzazione strumento).
4. Fare clic su **Verify instrument performance** (Verifica prestazioni strumento).
5. Fare clic su **Next** (Avanti).
6. Fare clic su **Approved Tuning** (Sintonizzazione approvata).
7. Fare clic su **Next**.
8. Selezionare una soluzione alla voce **Tuning Solution** (Sintonizzazione approvata).

   Sono disponibili diverse modalità in base alla soluzione selezionata:
   a. Fare clic su una polarità.
   b. Se sono disponibili, fare clic su **Q1** e **Q3** alla sezione **Quad.**
   c. Fare clic sulle velocità di scansione richieste, se disponibili.
9. Fare clic su **Next**.
10. Se si apre la pagina **Select a mode** (Seleziona modalità), selezionare **Automatic** (Automatica).
11. Fare clic su **Next**.

12. Fare clic su **GO**.

    Si apre la finestra di dialogo **Verifying or Adjusting Performance** (Verifica o regolazione prestazioni). Dopo che il processo è stato completato, si aprirà la schermata **Results Summary** (Riepilogo risultati). Per ulteriori informazioni, fare riferimento al menu Help.

13. Se applicabile (in base alle opzioni selezionate), cambiare le soluzioni quando richiesto.

Finestra di dialogo Verifying or Adjusting Performance

L'angolo in alto a sinistra mostra la parte dello strumento che viene sintonizzata.

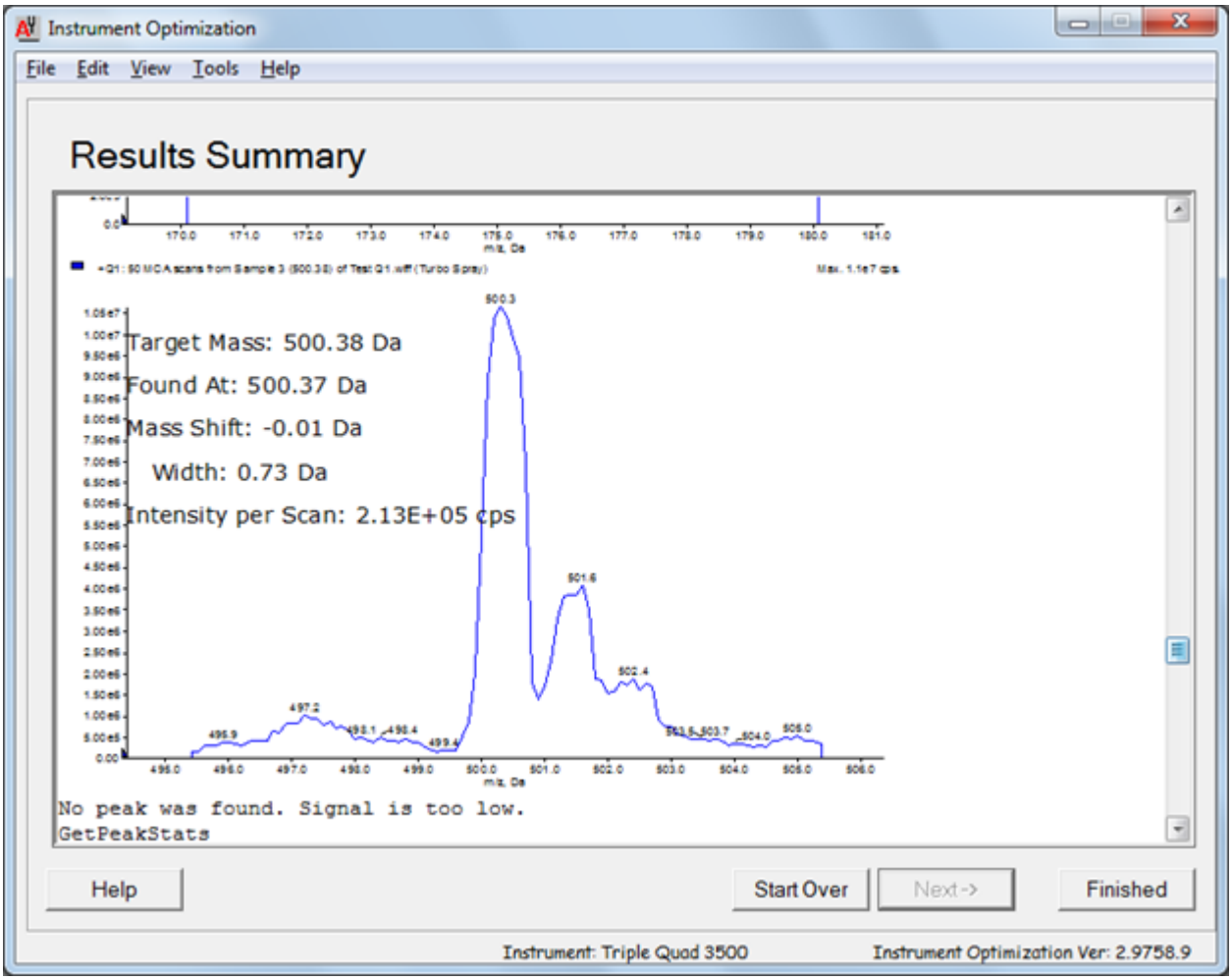
Il grafico **Current Spectrum** (Spettro corrente) mostra lo spettro della scansione corrente, la scansione ottimale scelta dal software o la scansione al valore corrente del parametro quando i risultati del software sono visualizzati in modalità interattiva.

La voce **Instrument Optimization Decision Plots** (Grafici di decisione ottimizzazione strumento), nel grafico in alto a destra, mostra dinamicamente l'intensità rispetto alle curve di tensione dei parametri che sono in corso di ottimizzazione.

Results Summary

Il **Results Summary** (Riepilogo risultati) è un registro di tutte le modifiche alle impostazioni dello strumento apportate tramite la procedura guidata **Instrument Optimization** (Ottimizzazione strumento).

Figura 6-1 Results Summary



Il Results Summary (Riepilogo risultati) comprende la posizione dei file di dati e il backup delle impostazioni dello strumento, così come i cambiamenti passo-passo e i risultati dell'ottimizzazione.

Il **Results Summary** (Riepilogo risultati) contiene anche un report di verifica. Questo report contiene un'immagine catturata dello spettro di massa per ogni massa relativa alle modalità di scansione in corso di verifica. Lo spettro è etichettato con la massa target, la posizione in cui la massa è stata trovata, lo spostamento della massa, la larghezza e l'intensità dei picchi. Lo spettro può essere utilizzato come un registro grafico della forma dei picchi o delle prestazioni di una determinata modalità di scansione. Una tabella riepilogativa dei risultati accompagna gli spettri.

Il **Results Summary** viene salvato come un documento nella cartella indicata nella parte superiore del report nella cartella: **\Analyst Data\Projects\API Instrument\Data\Instrument Optimization**. Gli utenti possono stampare il **Results Summary** o aprirne uno salvato in precedenza.

Istruzioni operative — Ottimizzazione automatica 7

Questa sezione descrive come:

- Ottimizzare automaticamente l'analita utilizzando la procedura guidata **Compound Optimization** (Ottimizzazione composto).
- Scegliere tra l'infusione e l'analisi ad iniezione in flusso (FIA).
- Utilizzare un metodo di infusione per ottimizzare i parametri dipendenti dal composto.
- Utilizzare un metodo FIA per ottimizzare i parametri dipendenti dal composto e dalla sorgente di ionizzazione.

Prerequisiti

- Uno spettrometro di massa sintonizzato e calibrato.
- Un metodo di acquisizione ottimizzato.
- Per l'introduzione del campione mediante FIA, una pompa LC e un autocampionatore nel profilo hardware.
- Tutte le periferiche richieste, compresa una pompa a siringa, se necessaria, e i componenti LC presenti nel profilo hardware.

Materiali richiesti

Per sintonizzare i parametri dello strumento per un particolare composto, è consigliata la seguente procedura. La miscela dei quattro composti viene usata per illustrare le fasi della procedura.

- Una siringa, preferibilmente da 1,0 mL.
- Fase mobile 1:1 acetonitrile:acqua + 2 mM acetato di ammonio + 0,1% acido formico.
- Fiale autocampionatore.
- Miscela a quattro composti (50 ng/mL), costituita da reserpina, minoxidil, tolbutamide e rescinnamina. La soluzione può essere utilizzata per infusione e FIA. La concentrazione dipende dal sistema. Utilizzare una soluzione al 49,9% di acetonitrile, 50% acqua deionizzata e 0,1% acido formico come diluente.

Informazioni sulla ottimizzazione automatica

L'ottimizzazione automatica controlla prima la presenza dei composti. Le tensioni dei vari parametri del percorso degli ioni vengono gradualmente aumentate o diminuite per determinare la massima intensità del segnale (scansione Q1) per ciascuno ione. Un file di testo viene generato e mostrato durante il processo di ottimizzazione. Questo file registra i vari esperimenti eseguiti e i valori ottimali per ciascun parametro. Viene generata anche una cartella contenente tutti gli esperimenti eseguiti che può essere trovata aprendo la cartella

dei file di dati in modalità **Explore** (Esplora). Per ogni esperimento eseguito, viene generato anche un metodo di acquisizione che viene salvato nella cartella **Acquisition Method** (Metodo di acquisizione).

Durante il processo di ottimizzazione, selezionare come scegliere lo ione precursore e i corrispondenti ioni prodotto.

Tipi di introduzione del campione

Infusione

L'infusione è il flusso continuo del campione a basse velocità di flusso nella sorgente di ionizzazione mediante una pompa a siringa. Durante il processo di ottimizzazione dell'infusione, il software può selezionare gli ioni precursori e prodotto e ottimizzare il potenziale di declustering, l'energia di collisione e il potenziale in uscita dalla camera di collisione. Le tensioni dei parametri del percorso degli ioni vengono gradualmente aumentate o diminuite per determinare la massima intensità del segnale per gli ioni precursori e prodotto.

Utilizzare l'ottimizzazione dell'infusione per ottimizzare i parametri dipendenti dal composto solo a velocità di flusso molto più basse di quelle utilizzate durante l'analisi LC/MS.

FIA

La FIA è l'iniezione di un campione da parte dell'autocampionatore nello spettrometro di massa mediante LC. Durante il processo di ottimizzazione attraverso FIA, si eseguono più iniezioni di campione per vari tipi di parametri dipendenti da sorgente di ionizzazione o composto che vengono cambiati tra le iniezioni. L'ottimizzazione del composto attraverso FIA ottimizza i parametri eseguendo esperimenti in loop in successione. Un parametro dipendente dal composto è ottimizzato prima ed è seguito dal parametro dipendente dal composto successivo. Esso ottimizza i parametri dipendenti da sorgente di ionizzazione effettuando un'iniezione per ciascun valore.

I parametri del composto devono essere limitati utilizzando almeno altri due cicli FIA. Utilizzare l'ottimizzazione attraverso FIA per ottimizzare sia i parametri dipendenti dal composto sia quelli dipendenti dalla sorgente mediante LC a velocità di flusso elevate.

Tabella 7-1 Differenze tra metodi di introduzione del campione

Metodo	Dispositivi necessari	Parametri	Gamma delle velocità di flusso tipiche
Infusione	Pompa a siringa	Dipendente dal composto	da 5µL/min a 25µL/min
FIA	Pompa LC e autocampionatore	Dipendente dalla sorgente e dal composto	da 25 µL/min a 1.000 µL/min

Durante l'ottimizzazione, viene generato e mostrato un file di testo. Questo file registra i vari esperimenti eseguiti e i valori ottimali per ciascun parametro. Viene generata anche una cartella contenente tutti i file di dati. Per ogni esperimento eseguito, viene generato anche un metodo di acquisizione che viene salvato nella cartella **Acquisition Methods** (Metodi di acquisizione).

Ottimizzazione automatica di un analita mediante infusione

In questa sezione, gli utenti eseguiranno l'ottimizzazione MS/MS automatica utilizzando l'infusione con uno ione precursore conosciuto e uno ione prodotto sconosciuto.

Conferma della presenza di composti

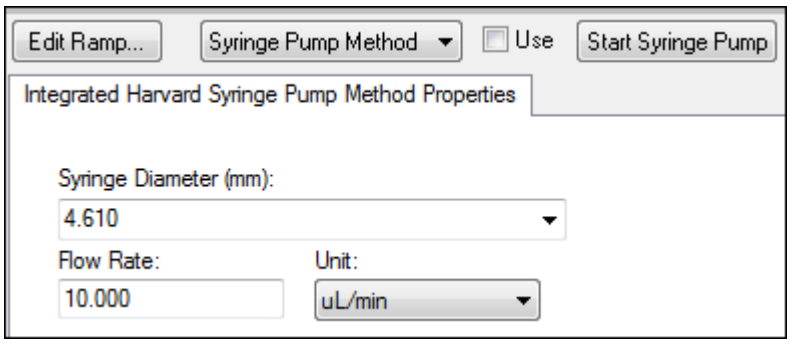
Confermare la presenza di composti di interesse prima di proseguire con l'ottimizzazione automatica.

1. Creare un progetto.
2. Attivare il profilo hardware.
3. Infondere il composto in soluzione ad una velocità da 5 µL/min a 10 µL/min.
4. Nella barra di navigazione, in **Tune and Calibrate** (Sintonizzazione e calibrazione), fare doppio clic su **Manual Tuning** (Sintonizzazione manuale).
5. Nella scheda **Syringe Pump Method Properties** (Proprietà metodo pompa a siringa), immettere i parametri come mostrato nella *Tabella 7-2*.

Tabella 7-2 Scheda Proprietà metodo pompa a siringa

Parametro	Valore
Diametro siringa	Dipendente da siringa; la siringa da 1,0 mL è 4,610 mm
Velocità di flusso	10
Unità	µL/min

Figura 7-1 Scheda Proprietà metodo pompa a siringa



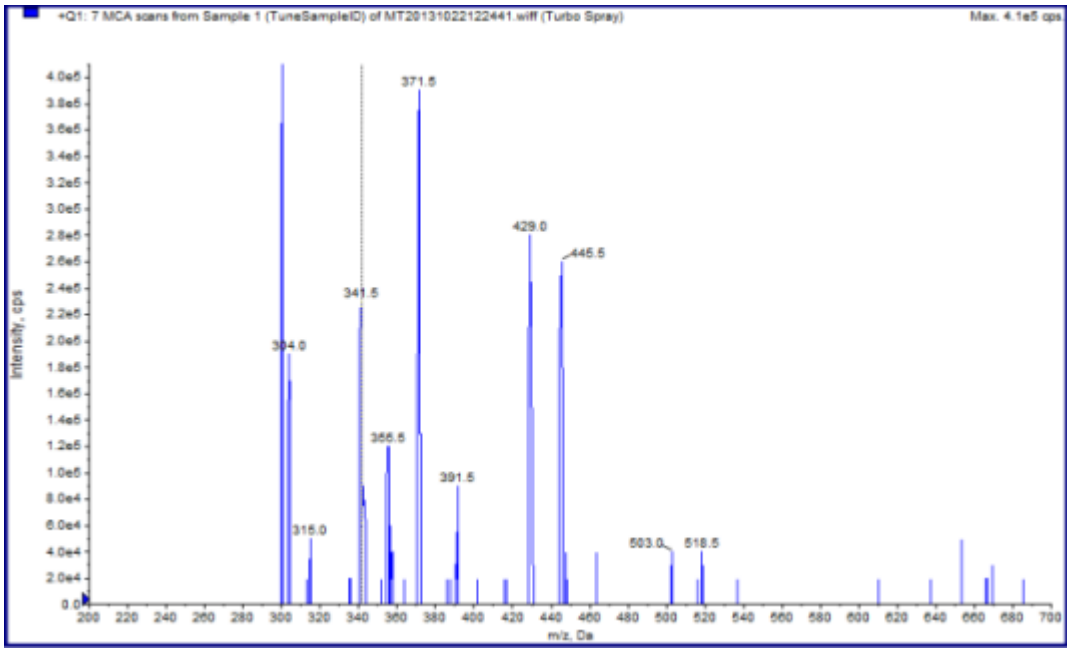
6. Fare clic su **Start Syringe Pump** (Avvia pompa a siringa).
7. Fare clic su **MS Method** (Metodo MS) dall'elenco dei metodi.
8. Fare clic su **Start**.

9. Attendere fino a quando non si vedono un TIC uniforme sulla sinistra e i picchi sulla destra, quindi fare clic su **Stop**.
10. Selezionare la casella di controllo **MCA**.
11. Digitare **10** nel campo **Cycles** (Cicli) .
12. Fare clic su **Start**.

    Quando le dieci scansioni sono completate, il grafico dovrebbero mostrare le masse dei quattro composti come ioni.

    Le intensità dei composti dovrebbero essere molto più alte dei picchi di rumore più piccoli, ma non così alte da non poter vedere nessun picco di rumore. Nel primo caso, il picco potrebbe non essere un composto reale. Nel secondo caso, la concentrazione potrebbe essere troppo elevata tanto da non consentire al software di ottimizzare in modo corretto.

Figura 7-2 Ioni del composto



Esecuzione dell'ottimizzazione MS e MS/MS automatica mediante l'infusione con uno ione precursore conosciuto e uno ione prodotto sconosciuto

L'ottimizzazione automatica per l'analisi MS/MS ottimizza alcuni parametri dipendenti dal composto per una o più transizioni MRM. Il software trova lo ione di interesse e ottimizza i parametri dipendenti dal composto per ottenere la massima sensibilità per il composto. Il software aumenta la CE e raccoglie i frammenti più intensi soddisfacendo tutti i criteri di selezione degli ioni prodotto.

Se il segnale di scansione iniziale Q1 è troppo alto, il software tenta di abbassare il CEM per mantenere gli ioni all'interno del raggio d'azione del rilevatore. Se dopo aver abbassato il CEM il segnale è ancora troppo alto, il processo si interrompe e appare un messaggio di errore. Diluire la soluzione e riavviare l'ottimizzazione.

Accertarsi di aver spurgato la linea di infusione. I parametri dell'ultima ottimizzazione quantitativa vengono memorizzati.

1. Nella barra di navigazione, sotto **Tune and Calibrate** (Sintonizza e calibra), fare doppio clic su **Compound Optimization** (Ottimizzazione composto).
2. Nella pagina **Instrument Settings** (Impostazioni strumento), nella sezione **Inlet** (Ingresso), fare clic su **Infusion** (Infusione).
3. Nella sezione **Mass Spectrometer** (Spettrometro di massa), fare clic su **MS/MS Analysis** (Analisi MS/MS).
4. Fare clic su **Next**.
5. Nella pagina **Ions to use in MS/MS Analysis** (Ioni da usare nell'analisi MS/MS), immettere i parametri mostrati nella *Tabella 7-3*.

Tabella 7-3 Pagina Analisi MS/MS

Parametro	Valore
Ione MW: Finestra di ricerca	2,500
Resolution	Unità
Polarity	Positiva
Ione Prodotto	Auto Select (Seleziona automatica)
Resolution	Unità

Nota: L'algoritmo di ottimizzazione cerca il picco più intenso nella finestra di ricerca specificata. Se il picco più intenso in tale finestra non è la massa di interesse, il software ottimizzerà lo ione sbagliato.

6. Fare clic su **Criteria** (Criteri) vicino all'opzione **Auto Select**.
7. Nella finestra di dialogo **Product Ion Auto Selection Criteria** (Criteri di selezione automatica dello ione prodotto), immettere i parametri mostrati nella *Tabella 7-4*.

Tabella 7-4 Parametri della finestra di dialogo Criteri di selezione automatica dello ione prodotto

Parametro	Valore	Descrizione
Dal più intenso (picchi)	3	Il numero di picchi frammento da ottimizzare. L'algoritmo genererà uno spettro di scansione di ione prodotto aumentando la CE in modalità MCA. In questo esempio, prenderà poi i tre ioni frammento più intensi dallo spettro e continuerà l'ottimizzazione MS/MS solo su tali frammenti.
Generazione del metodo finale mediante (picchi più intensi)	2	Il numero di ioni frammento per ione precursore (composto di destinazione) da includere automaticamente nel metodo di acquisizione. Il numero specificato definisce il numero di transizioni MRM da includere per ogni composto di destinazione nel metodo; l'ordine delle preferenze si basa sull'intensità dello ione frammento. Due è un valore di partenza migliore di uno perché generalmente per la quantificazione sono necessari due ioni prodotto. Iniziare con tre, qualora vi sia un problema con uno dei due migliori. Tornare indietro e il terzo è già identificato.
Esclusione di Ioni Prodotto entro ± (Da di m/z di Ione Precursore)	20.000	Il valore Da che definisce la finestra di esclusione attorno allo ione precursore cosicché gli ioni frammento che rientrano in questa finestra non vengono selezionati per l'ottimizzazione MRM. Ad esempio, se l'utente digita ±5 Da per uno ione precursore di 500 *m/z*, qualsiasi ione frammento nel rapporto *m/z* da 495 a 505 è escluso. Ciò impedisce che lo ione precursore sia ottimizzato.
Min. Massa per Ione Prodotto (Da)	60.000	La massa di frammento più bassa da considerare per l'ottimizzazione. Utilizzare questa opzione per restringere o allargare la finestra degli ioni frammento da considerare dalla massa del precursore.
Soglia per Ione Prodotto (cps)	100.000	Numero minimo di conteggi per uno ione prodotto da considerare.

8. Fare clic su **OK** per salvare le modifiche ai criteri di selezione.
9. Fare clic su **Next**.
10. Nella finestra di dialogo **Target Components** (Componenti target), immettere i parametri mostrati nella *Tabella 7-5*.

Nota: Il nome del composto deve essere univoco per ogni composto o transizione.

Tabella 7-5 Parametri della finestra di dialogo Composti di destinazione

Composto di destinazione	Field	Valore*
Reserpina	Nome del composto	Reserpina
	MW (Da)	609,3
	No. Cariche	1
Minoxidil	Nome del composto	Minoxidil
	MW (Da)	210,2
	No. Cariche	1
Tolbutamide	Nome del composto	Tolbutamide
	MW (Da)	271,1
	No. Cariche	1
Rescinnamina (IS)	Nome del composto	Rescinnamina
	MW (Da)	635,3
	No. Cariche	1
*Digitare la massa ionica esatta.		

11. Fare clic su **Finish** per iniziare la procedura di ottimizzazione.

    Lo schermo mostra due finestre, una finestra per il file di testo e una per l'acquisizione. L'utente potrebbe dover ridurre a icona una finestra per vedere l'altra. L'esperimento in fase di esecuzione è mostrato nella parte superiore della finestra di acquisizione. L'asse x mostra il parametro in corso di ottimizzazione per ogni esperimento. La finestra file di testo viene aggiornata quando si generano risultati.

    Dopo aver completato l'ottimizzazione, un file di acquisizione MRM viene creato e nominato **[composto]_QOpt_FinalMRM_Pos.dam**, dove [composto] è il primo composto nella pagina **Target Components** (Componenti target).

Controllo dei risultati dell'ottimizzazione

Al termine dell'ottimizzazione, i parametri ottimizzati vengono salvati in un metodo di acquisizione. Tutti i file .dam e .wiff generati nel processo di ottimizzazione vengono salvati nella cartella **Acquisition Method** (Metodo di acquisizione) e in una sottocartella della cartella **Data** (Dati) rispettivamente nel progetto. Il nome della sottocartella è generato utilizzando il nome del composto e la data.

1. Dopo aver completato l'ottimizzazione, stampare il file di testo contenente i parametri ottimizzati per ciascun composto.
2. Fare clic su **File > Menu** (File > Menu) quindi selezionare il file **Reserpine_QOpt_FinalMRM.POS.dam**.
3. Confrontare i valori del file di testo con quelli del file .dam.

4. Verificare il contenuto delle seguenti cartelle:

    - **Data**: Rivedere tutte le esecuzioni dell'ottimizzazione. Confrontare un file .wiff con il valore ottimizzato nel metodo o con i parametri stampati.
    - **Acquisition Method**: file **Reserpine_QOpt_FinalMRM.POS.dam** e altri file .dam creati durante l'ottimizzazione.
    - **Log**: Un file di rapporto (.rtf) mostrato durante il processo di ottimizzazione.

Ottimizzazione automatica di un analita mediante FIA

Prima di eseguire l'ottimizzazione mediante FIA, l'utente deve avere già identificato gli ioni per i composti e avere salvato il metodo di acquisizione di base. Poiché l'utilizzo della FIA per l'ottimizzazione richiede che un autocampionatore e una pompa LC siano attivi nel profilo hardware, aggiungere questi due dispositivi al metodo di acquisizione di base.

Nota: Sebbene sia possibile utilizzare la FIA per ottimizzare parametri dipendenti dal composto, in genere non si procede in questo modo a causa del numero di cicli necessari per ottenere i valori dei parametri ottimali.

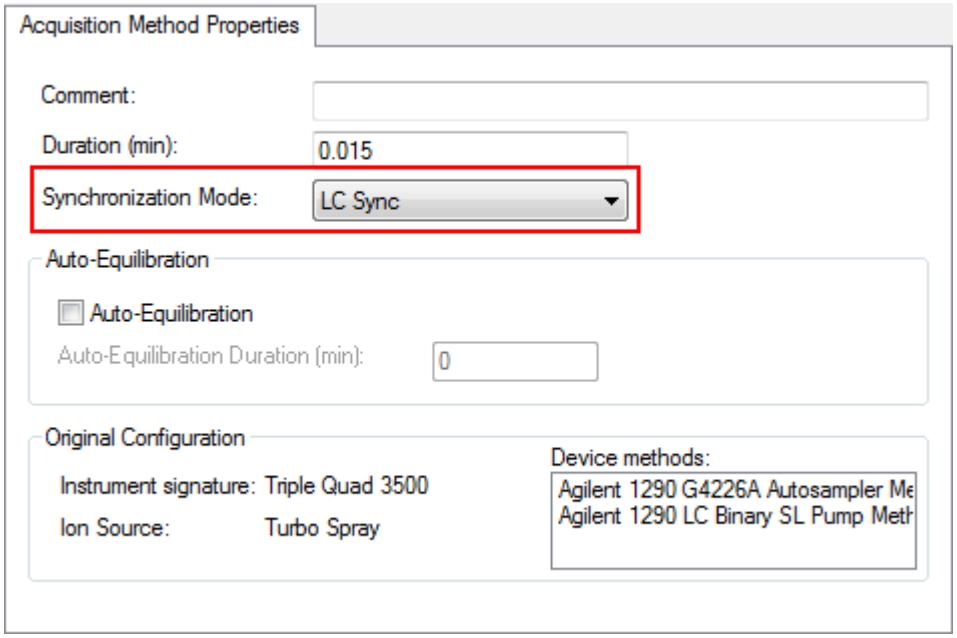
Prima di iniziare, creare un metodo di acquisizione LC/MS/MS basato sul file **Reserpine_QOpt_FinalMRM.POS.dam** e nominare il nuovo metodo. Verificare che il progetto contenga un metodo di acquisizione.

1. Mettere una diluizione di miscela a quattro composti in un autocampionatore.

    È necessario avere a disposizione una quantità di campione sufficiente per osservare ogni variabile di ciascun parametro e poter disporre di residui del campione. Per esempio, per la temperatura di funzionamento a 300 °C, 400 °C e 500 °C, sono necessari più di 30 µL (3 iniezioni da 10 µL).

2. Verificare che **LC Sync** (Sinc. LC) sia selezionato nel metodo.

Figura 7-3 Metodo di acquisizione con opzione LC Sync (Sinc. LC) selezionata



3. Verificare che la sorgente di ionizzazione e i parametri relativi al gas siano impostati a livelli accettabili affinché lo spettrometro di massa non venga contaminato.
4. Impostare il micrometro orizzontale a 5 mm.
5. Impostare il micrometro verticale sulla sorgente di ionizzazione per la portata. Come punto di inizio, utilizzare i parametri nella *Tabella 7-6*.

Tabella 7-6 Parametri verticali sorgente di ionizzazione

Velocità di flusso	Parametri verticali iniziali
da 1µL/min a 20µL/min	10 mm
da 20µL/min a 250µL/min	5 mm
da 250µL/min a 500µL/min	2 mm
500 + µL/min	0 mm

6. Impostare i valori per il sistema LC e utilizzare un volume di iniezione dell'autocampionatore di 10 µL. Utilizzare la stessa concentrazione, o una inferiore, impiegata nell'esperimento di infusione.

   Le pompe LC devono essere impostate per un'esecuzione isocratica senza colonne. I tempi MS e LC devono essere uguali per raccogliere i dati corretti.

   La velocità di flusso e la percentuale delle fasi mobili devono essere basate sulla colonna LC utilizzata, la cromatografia generale e la concentrazione della fase mobile approssimativa alla quale i composti di interesse eluiscono.

7. Nella barra di **Navigation** (Navigazione), sotto **Tune and Calibrate** (Sintonizzazione e calibrazione), fare doppio clic su **Compound Optimization** (Ottimizzazione composto).
8. Nella pagina **Instrument Settings** (Impostazioni strumento), in base allo stack utilizzato, inserire i parametri mostrati nella *Tabella 7-7*, quindi selezionare il metodo di acquisizione predefinito appropriato.

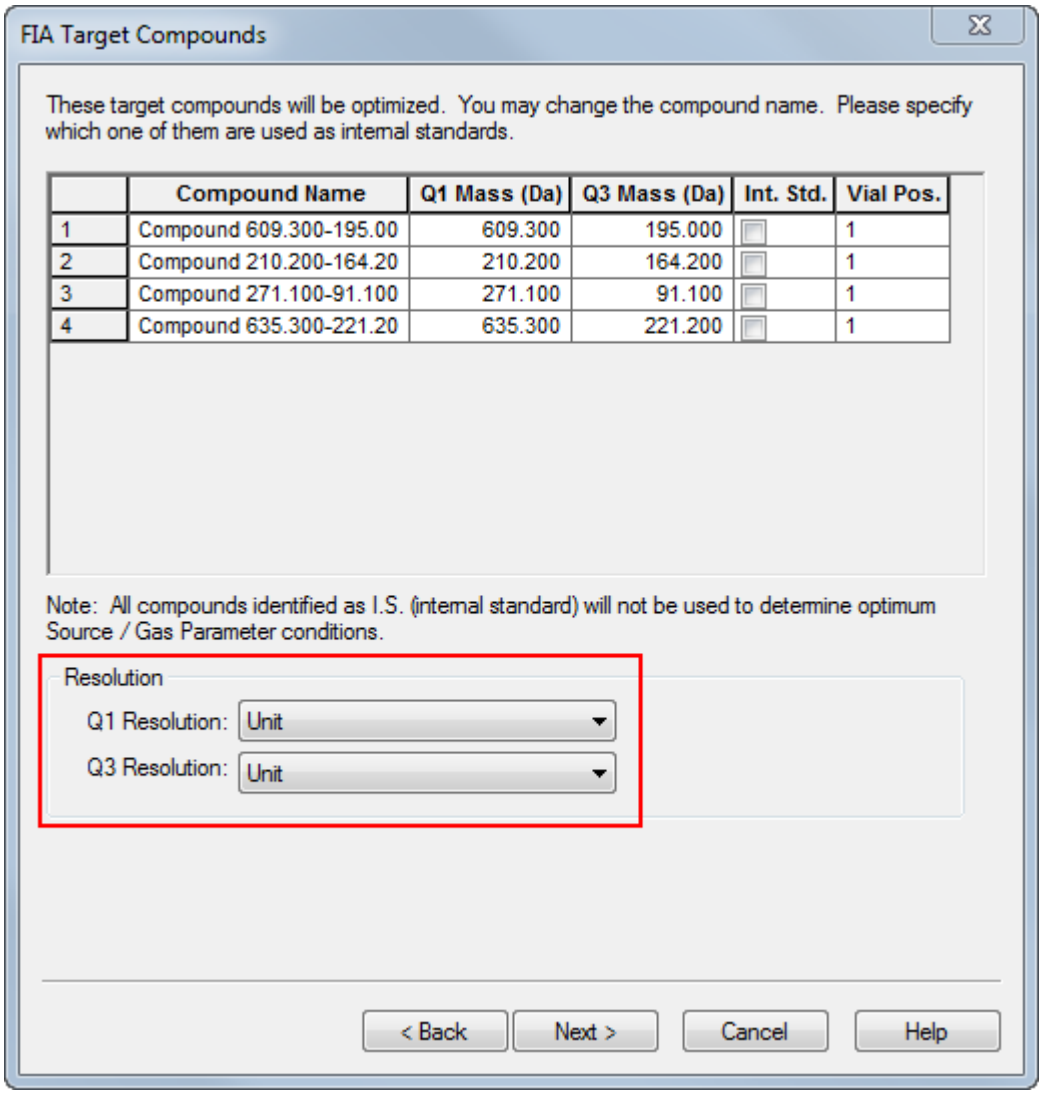
Tabella 7-7 Parametri della pagina Impostazioni strumento

Parametro	Valore
Ingresso	FIA
Codice rack	Specifico dell'autocampionatore
Posizione rack	Specifico dell'autocampionatore
Volume di iniezione	10 µL
Spettrometro di massa	Analisi MS/MS

9. Fare clic su **Next**.
10. Verificare che la casella **Int. Std.** non sia selezionata.

    Selezionando la casella di controllo si indica quale MRM corrisponde agli standard interni. Gli standard interni non vengono ottimizzati durante il processo di ottimizzazione.
11. Nella sezione **Resolution**, selezionare **Unit** in entrambi i campi **Q1 Resolution** e **Q3 Resolution**.

Figura 7-4 Campi Risoluzione Q1 e Q3


FIA Target Compounds
These target compounds will be optimized. You may change the compound name. Please specify which one of them are used as internal standards.
Compound Name
Q1 Mass (Da)
Q3 Mass (Da)
Int. Std.
Vial Pos.
1 Compound 609.300-195.00 609.300 195.000 1
2 Compound 210.200-164.20 210.200 164.200 1
3 Compound 271.100-91.100 271.100 91.100 1
4 Compound 635.300-221.20 635.300 221.200 1
Note: All compounds identified as I.S. (internal standard) will not be used to determine optimum Source / Gas Parameter conditions.
Resolution
Q1 Resolution: Unit
Q3 Resolution: Unit
< Back
Next >
Cancel
Help

12. Fare clic su **Next**.
13. Nella pagina **FIA Source Parameters** (Parametri Sorgente FIA), digitare i numeri inferiori o superiori al valore originale finché rientrano ancora nelle specifiche. Assicurarsi di non impostare valori troppo bassi per mantenere pulito il sistema. Usare i parametri mostrati in *Tabella 7-8*.

Tabella 7-8 Parametri per la pagina Parametri Sorgente FIA

Parametro	Selezionare la casella di controllo Optimize (Ottimizza)?	Valori di ottimizzazione
Curtain Gas	Sì	20;40;55
Collision Gas	No	—

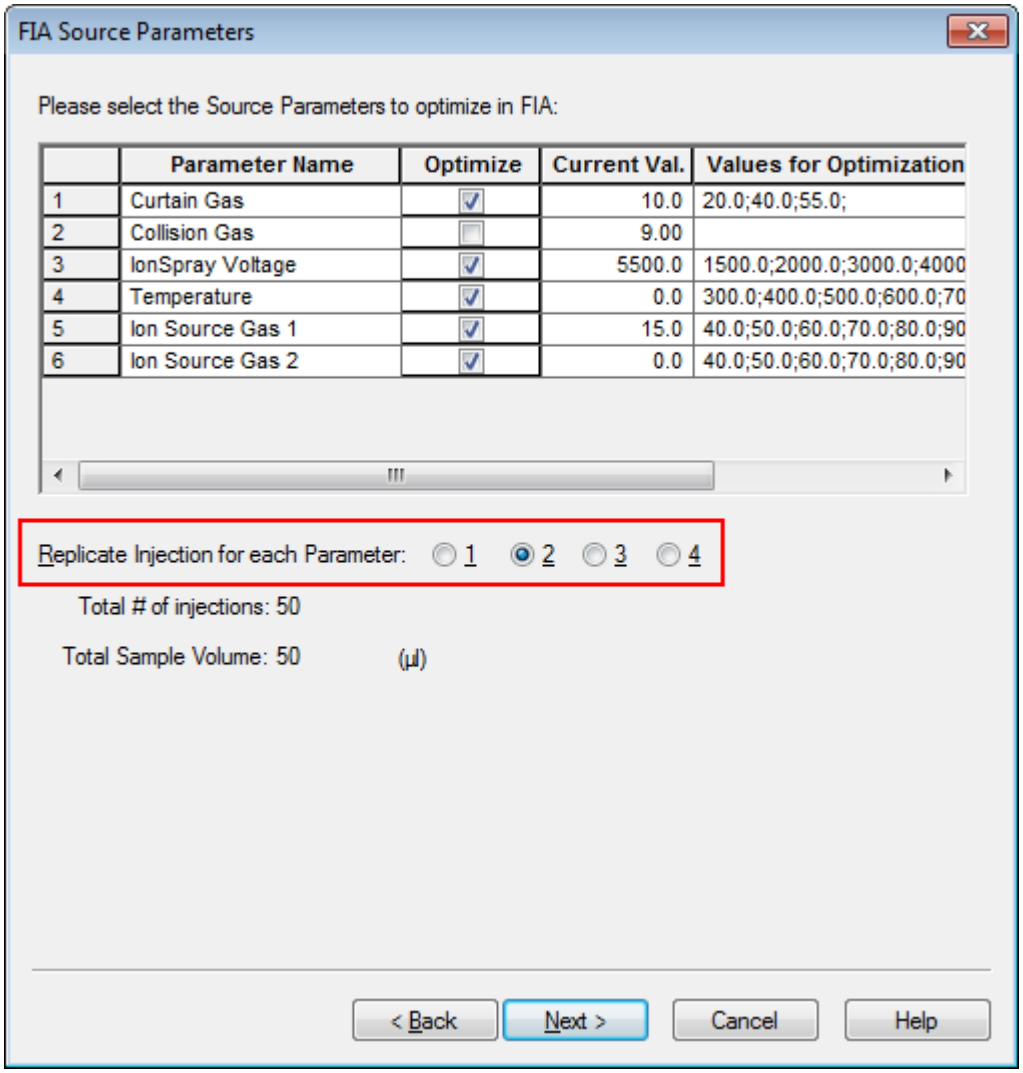
Tabella 7-8 Parametri per la pagina Parametri Sorgente FIA (continua)

Parametro	Selezionare la casella di controllo Optimize (Ottimizza)?	Valori di ottimizzazione
Tensione IonSpray	Sì	1500;2000;3000;4000;5000
Temperatura	Sì	300;400;500;600;700
Gas Sorgente 1	Sì	40;50;60;70;80;90
Gas Sorgente 2	Sì	40;50;60;70;80;90
Riscaldatore di interfaccia	No	—

14. Selezionare **1 o 2** accanto a **Replicate Injection for each Parameter** (Replica iniezione per ciascun parametro).

    Il numero totale di iniezioni e il volume totale del campione sono calcolati sulla base delle specifiche qui riportate. Annotare il volume totale del campione richiesto. Il volume del campione potrebbe essere alto a seconda di quante variabili si stanno ottimizzando per ciascun parametro, poiché ogni variabile è un metodo separato.

Figura 7-5 Campo Replicate Injection for each Parameter (Replica iniezione per ogni parametro)


FIA Source Parameters
Please select the Source Parameters to optimize in FIA:
Parameter Name
Optimize
Current Val.
Values for Optimization
1 Curtain Gas 10.0 20.0;40.0;55.0;
2 Collision Gas 9.00
3 IonSpray Voltage 5500.0 1500.0;2000.0;3000.0;4000
4 Temperature 0.0 300.0;400.0;500.0;600.0;70
5 Ion Source Gas 1 15.0 40.0;50.0;60.0;70.0;80.0;90
6 Ion Source Gas 2 0.0 40.0;50.0;60.0;70.0;80.0;90
Replicate Injection for each Parameter: 1 2 3 4
Total # of injections: 50
Total Sample Volume: 50 (µl)
< Back
Next >
Cancel
Help

15. Fare clic su **Next**.
16. Nella pagina **FIA Compound Parameters** (Parametri Composto FIA), immettere i parametri mostrati nella *Tabella 7-9*.

Nota: I valori nella *Tabella 7-9* sono valori consigliati. Per ulteriori informazioni, fare riferimento al menu Help.

Tabella 7-9 Pagina Parametri Composto FIA

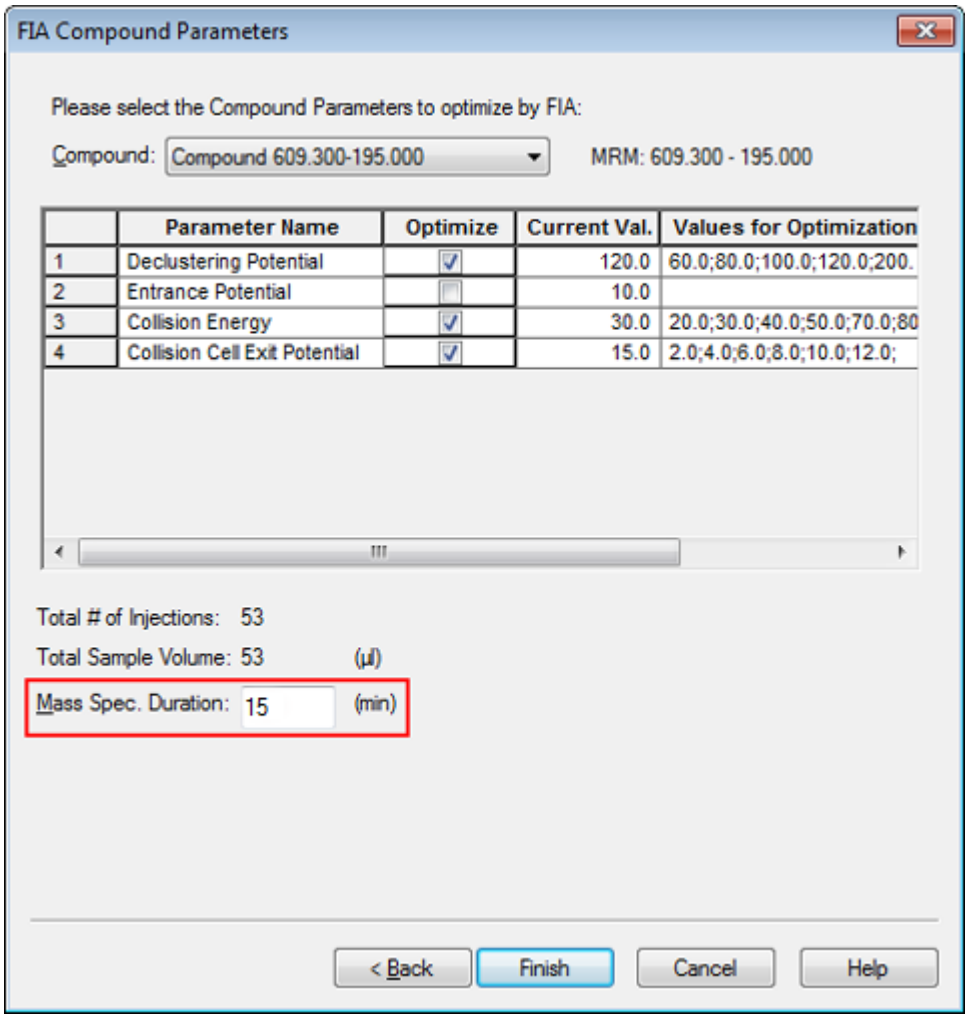
Parametro	Selezionare la casella di controllo Optimize (Ottimizza)?	Valori di ottimizzazione
Potenziale di declustering	Sì	60;80;100;120;200
Potenziale in Entrata	No	—
Energia di Collisione	Sì	20;30;40;50;70;80;100
Potenziale in Uscita dalla Camera di Collisione	Sì	2;4;6;8;10;12

Il numero totale di iniezioni e il volume del campione dipendente sono aggiornati automaticamente. A differenza dei parametri della sorgente di ionizzazione, che richiedono un'iniezione per valore per replica, i parametri dipendenti dal composto richiedono solo un'iniezione per parametro. Un esperimento in loop viene eseguito per ciascun parametro; i valori si alternano scansione per scansione all'interno di un'iniezione.

Nota: Non immettere troppi valori che impediscono una corretta valutazione del parametro.

17. Inserire **15** nel campo **Mass Spec. Duration** (Durata spett. massa). Questo valore deve essere almeno pari alla durata richiesta di ogni iniezione.

Figura 7-6 Mass Spec. Campo Mass Spec. Duration (Durata spet. massa)



18. Fare clic su **Finish** per iniziare la procedura di ottimizzazione.

    Il software ottimizza i parametri specificati dipendenti dalla sorgente di ionizzazione e dal composto per ottenere la massima sensibilità per la transizione MRM del composto. Mentre il software procede con l'ottimizzazione, crea un rapporto **Compound Optimization** (Ottimizzazione composto).

    Per ottenere parametri ottimizzati, questa routine deve essere ripetuta. In genere, i parametri della sorgente di ionizzazione e del gas devono essere ristretti mediante uno o più cicli FIA.

19. Il software genera diversi metodi di acquisizione. Aprire il metodo FIA finale ottimizzato chiamato *_FIA_sample_1.

20. Salvare questo metodo con un nome più semplice.

Istruzioni operative — Metodi di acquisizione 8

Si raccomanda che solo utenti esperti nello sviluppo dei metodi creino o modifichino i metodi di acquisizione e di quantificazione. Fare riferimento alla sezione Informazioni su utenti e ruoli della *Guida del Direttore di Laboratorio* per maggiori informazioni sui ruoli e sulla sicurezza.

Creazione di un metodo di acquisizione mediante Acquisition Method Editor

Suggerimento! Se l'utente sta creando un nuovo file di metodo di acquisizione da un file esistente, si può decidere di utilizzare alcuni o tutti i metodi del dispositivo periferico nel metodo di acquisizione.

Solo i dispositivi configurati nel profilo hardware attivo appaiono nel riquadro **Acquisition method** (Metodo di acquisizione). Qualsiasi dispositivo aggiunto al profilo hardware deve essere aggiunto anche ai metodi di acquisizione già esistenti. Per maggiori informazioni sui dispositivi, fare riferimento alla *Guida alla Configurazione delle Periferiche*.

1. Verificare che sia attivo un profilo hardware contenente lo spettrometro di massa e le periferiche.
2. Nella barra di navigazione, alla voce **Acquire**, fare doppio clic su **Build Acquisition Method** (Crea metodo di acquisizione).
3. Selezionare una **Synchronization Mode** (Modalità di sincronizzazione) sulla scheda **Acquisition Method Properties** (Proprietà metodo acquisizione).
4. (Opzionale) Selezionare la casella **Auto-Equilibration** (Bilanciamento automatico) e inserire il tempo di bilanciamento necessario, in minuti.
5. Fare clic sull'icona **Mass Spec** (Spet. massa) nel riquadro **Acquisition method** (Metodo acquisizione).
6. Selezionare un **Scan type** (Tipo scansione) nella scheda **MS**.
7. Immettere i valori nei campi come richiesto. Fare riferimento a *Parametri a pagina 68*.
8. Nella scheda **Advanced MS** (MS avanzato), inserire i valori nei campi secondo necessità.
9. Nella scheda **MS**, fare clic su **Edit Parameters** (Modifica parametri).
10. Nella scheda **Source/Gas** (Sorgente/gas), specificare i valori nei campi secondo necessità.
11. Nella scheda **Compound** (Composto), specificare i valori nei campi secondo necessità, quindi fare clic su **OK**.
12. Fare clic su un'icona di dispositivo, quindi selezionare i parametri del dispositivo.
13. Aggiungere altri periodi ed esperimenti, se del caso. Fare riferimento a *Aggiunta di un esperimento a pagina 66* e *Aggiunta di un periodo a pagina 66*.
14. Fare clic su **File > Save** (File - Salva).

Configurazione della pompa siringa

1. Fare clic sull'icona **Syringe Pump** (Pompa siringa) nel riquadro **Acquisition method** (Metodo di acquisizione).

   Si apre la scheda **Syringe Pump Method Properties** (Proprietà metodo pompa siringa) nel riquadro **Acquisition Method** editor (Editor metodo acquisizione).
2. Immettere il diametro della siringa nel campo **Syringe Diameter (mm)** (Diametro siringa).
3. Inserire la portata nel campo **Flow Rate** (Portata).
4. Selezionare le unità di flusso dall'elenco **Unit** (Unità).

Aggiunta di un esperimento

1. Fare clic col pulsante destro sul periodo e poi fare clic su **Add experiment** (Aggiungi esperimento).

   Sarà aggiunto un esperimento sotto l'ultimo esperimento nel periodo.

   Nota: Non è possibile aggiungere un esperimento tra esperimenti o periodi. Gli utenti possono aggiungere un esperimento solo alla fine del periodo.
2. Selezionare i parametri appropriati per il dispositivo o lo strumento nel riquadro **Acquisition Method Editor** (Editor metodo acquisizione).

   Nota: Gli utenti non possono usare più periodi in un esperimento IDA.

Aggiunta di un periodo

- Nel riquadro **Acquisition method**, fare clic sull'icona **Mass Spec**, poi fare clic su **Add period**.

  Sarà aggiunto un periodo sotto l'ultimo periodo creato.

  Nota: Gli utenti non possono usare più periodi in un esperimento IDA.

Copia di un esperimento in un periodo

1. Aprire un metodo multi-periodo.
2. Nel riquadro **Acquisition method** (Metodo di acquisizione), premere **Ctrl**, quindi trascinare l'esperimento nel periodo.

   L'esperimento sarà copiato sotto l'ultimo esperimento presente nel periodo.

Copia di un esperimento contenuto in un periodo

Seguire questa procedura per aggiungere esperimenti simili o identici a un periodo, se la maggior parte o tutti i parametri sono identici.

- Fare clic col destro sull'esperimento e poi fare clic su **Copy this experiment** (Copia questo esperimento).

  Una copia dell'esperimento sarà aggiunta sotto l'ultimo esperimento creato. Ciò è utile quando ad un metodo di acquisizione si aggiungono gli stessi esperimenti o esperimenti analoghi.

Tecniche di scansione

MS: Nelle scansioni MS, conosciute anche come scansioni MS singole, gli ioni sono separati secondo il loro rapporto massa/carica (*m/z*). Una singola scansione MS potrebbe essere utilizzata per determinare il peso molecolare di un composto. Le scansioni MS singole possono anche essere indicate come scansioni di indagine. Le scansioni MS non forniscono alcuna informazione circa la conformazione chimica degli ioni oltre che il rapporto *m/z*. Effettuare scansioni di tipo MS/MS per ottenere maggiori informazioni sugli ioni.

MS/MS: Le scansioni MS/MS sono usate per identificare o verificare una specie molecolare. Per le scansioni MS/MS nei sistemi a triplo quadrupolo, la frammentazione dello ione precursore avviene nella camera di collisione.

Se si impiega abbastanza energia, lo ione precursore si frammenta per generare gli ioni prodotto caratteristici.

Tipi di scansione in modalità quadrupolo

Gli strumenti a triplo quadrupolo hanno funzionalità di monitoraggio di reazioni multiple (MRM) ad alta sensibilità, necessarie per gli esperimenti di quantificazione. Inoltre, hanno tipi di scansione altamente specifici, come le scansioni dello ione precursore o le scansioni di una perdita di un frammento neutro, che permettono una ricerca più avanzata sui componenti dei campioni.

Q1 MS (Q1): Un tipo di scansione completa che usa il primo quadrupolo (Q1). L'intensità di ionizzazione è rilevata per ogni massa nel range di scansione.

Q1 Multiple Ions (Q1 MI): Un tipo di scansione a larghezza nulla che utilizza il quadrupolo Q1. L'intensità di ionizzazione è rilevata solo per le masse specificate.

Q3 MS (Q3): Un tipo di scansione completa che usa il terzo quadrupolo (Q3). L'intensità di ionizzazione è rilevata per ogni massa nel range di scansione.

Q3 Multiple Ions (Q3 MI): Un tipo di scansione a larghezza nulla che utilizza il quadrupolo Q3. L'intensità di ionizzazione è rilevata solo per le masse specificate.

MRM (MRM): Una scansione MS/MS in cui uno ione selezionato dall'utente passa attraverso il quadrupolo Q1 e viene frammentato nella camera di collisione Q2. Il quadrupolo Q3 è poi utilizzato per determinare quale ione frammento entra nel rivelatore. Questa modalità di scansione è usata prevalentemente per la quantificazione.

Product Ion (MS2): Una scansione MS/MS completa dove il quadrupolo Q1 è impostato per trasmettere un determinato ione precursore e il quadrupolo Q3 effettua una scansione su un intervallo di massa definito. É usato per identificare tutti i prodotti di un determinato ione precursore.

Precursor Ion (Prec): Una scansione MS/MS dove il quadrupolo Q3 è impostato a un determinato rapporto massa/carica per trasmettere uno ione prodotto specifico e il quadrupolo Q1 scansiona un determinato intervallo di massa. È impiegata per verificare la presenza di uno ione precursore, o più comunemente per identificare i composti che condividono uno stesso ione prodotto.

Neutral Loss (NL): Una scansione MS/MS nella quale sia il quadrupolo Q1 che il quadrupolo Q3 effettuano una scansione su un intervallo di massa, mantenendo una differenza di massa prefissata. Si osserva una risposta se lo ione selezionato dal quadrupolo Q1 si frammenta perdendo il frammento neutro specificato (la massa prefissata). È impiegata per verificare la presenza di uno ione precursore, o più comunemente per identificare i composti che condividono una perdita neutra comune.

Note sull'acquisizione dei dati spettrali

I dati spettrali possono essere acquisiti in una delle modalità descritte nella *Tabella 8-1*.

Tabella 8-1 Dati spettrali

Modalità	Descrizione
Profilo	Il valore preimpostato è 0,1 Da. I dati profilo sono i dati generati dallo spettrometro di massa e corrispondono all'intensità registrata a una serie di valori di massa distinti e uniformemente distanziati. Ad esempio, in un intervallo di massa da 100 Da a 200 Da e con incrementi di 0,1 Da, lo spettrometro di massa misurerà da 99,95 a 100,05 (registrando 100 come valore), da 100,05 a 101,15 (registrando 101 come valore)… da 199,95 a 200,05 (registrando 200 come valore).
Salto picchi	Il valore preimpostato è 1,0 Da. Il Peak Hopping è una modalità operativa di uno spettrometro di massa che prevede l'impostazione di incrementi piuttosto grandi (approssimativamente 1 Da). Ha il vantaggio di offrire una maggior velocità (meno iterazioni dei dati), ma comporta la perdita di informazioni sulla forma dei picchi.

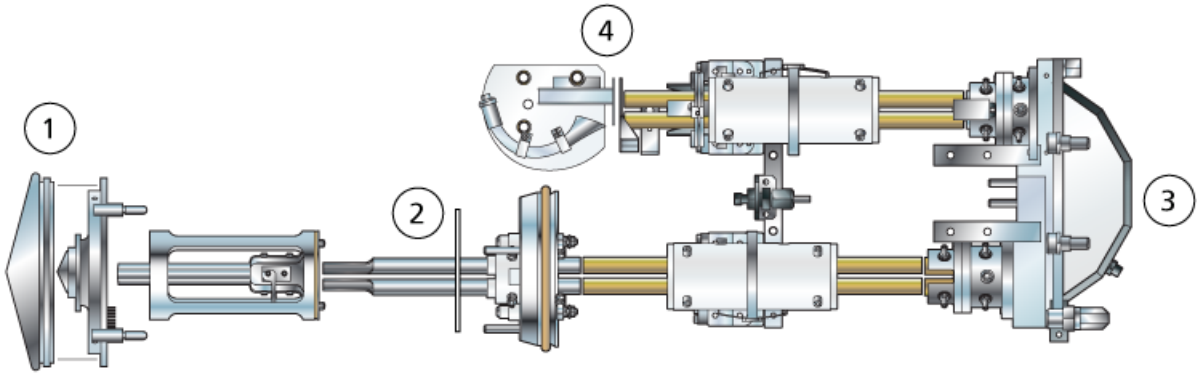
Parametri

I parametri di funzionamento sono il set di parametri strumentali attualmente in uso.

- Parametri della sorgente e del gas: (in base alla sorgente di ionizzazione) Questi parametri possono variare secondo la sorgente di ionizzazione usata.
- Parametri composto: Questi parametri sono principalmente costituiti dalle tensioni presenti sul percorso ionico. I valori ottimali dei parametri dipendenti dal composto variano a seconda del composto analizzato.
- Parametri rilevatore: Questi parametri influiscono sul rilevatore.

La *Figura 8-1* mostra la posizione dei parametri sul percorso delle ottiche ioniche.

Figura 8-1 Parametri e percorso delle ottiche ioniche



Elemento	Parametro	Tipo Parametro	Utilizzo	Tipo scansione
1	IonSpray Voltage (IS) (Voltaggio IonSpray (IS))	Sorgente e gas	Il parametro IS controlla la tensione applicata all'elettrodo, che ionizza il campione nella sorgente di ionizzazione. Esso dipende dalla polarità e influenza la stabilità del getto e la sensibilità. Questo parametro può dipendere dal composto e dovrebbe essere ottimizzato per ogni composto.	Tutte
1	Nebulizer Current (Corrente del Nebulizzatore) (NC)	Sorgente e gas	Il parametro NC controlla la corrente applicata all'ago di scarica a corona nella sonda ionizzazione chimica a pressione atmosferica (APCI). La scarica ionizza le molecole di solvente, che a loro volta ionizzano le molecole del campione.	Tutte
1	Gas 1 sorgente di ionizzazione (GS1)	Sorgente e gas	Per la sorgente di ionizzazione Turbo V™, il parametro GS1 controlla il gas di nebulizzazione per le sonde sia TurboIonSpray® che APCI.	Tutte
1	Gas 2 sorgente di ionizzazione (GS2)	Sorgente e gas	Per la sorgente di ionizzazione Turbo V™, il parametro GS2 controlla il gas ausiliario per la sonda TurboIonSpray®.	Tutte

Elemento	Parametro	Tipo Parametro	Utilizzo	Tipo scansione
1	Temperature (TEM) (Temperatura (TEM))	Sorgente e gas	Il parametro TEM controlla la temperatura del gas ausiliario per la sonda TurboIonSpray o la temperatura della sonda APCI.	Tutte
1	Curtain Gas (CUR - Curtain Gas)	Sorgente e gas	Il parametro CUR controlla il flusso di gas nell'interfaccia del™. L'interfaccia del Curtain Gas è posizionata tra il separatore di interfaccia e l'orifizio. Essa impedisce la contaminazione delle ottiche ioniche.	Tutte

Elemento	Parametro	Tipo Parametro	Utilizzo	Tipo scansione
1	Declustering Potential (DP) (Potenziale di declustering)	Composto	Il parametro DP controlla il voltaggio applicato all'orifizio che controlla la capacità di separare i cluster di ioni tra l'orifizio e la guida ionica QJet®. É impiegato per ridurre al minimo i cluster di solvente che possono restare sugli ioni campione dopo che questi entrano nella camera per vuoto e, se necessario, per frammentare gli ioni. Maggiore sarà la tensione, maggiore sarà l'energia impartita agli ioni. Se il parametro DP è impostato su valori troppo alti, potrebbe avvenire una frammentazione indesiderata. Usare il valore preimpostato e ottimizzarlo per il composto.	Tutte
2	Entrance Potential (Potenziale in entrata) (EP)	Composto	Il parametro EP controlla la differenza di potenziale tra il voltaggio sul Q0 e la terra. Il potenziale in entrata guida e focalizza gli ioni attraverso l'alta pressione applicata alla regione Q0. Usare il valore preimpostato.	Tutte
2	Q0 Trapping (Intrappolamento Q0)	Composto	Il parametro Q0 trapping controlla il mantenimento degli ioni nella regione del Q0. È impiegato per aumentare la sensibilità e il ciclo di lavoro, intrappolando gli ioni nella regione Q0 mentre gli ioni sono selezionati in base alla massa ed espulsi dalla trappola ionica lineare. Usare un tempo di riempimento prefissato per questo parametro. Selezionare o disabilitare questa opzione in base all'esperimento. Il tempo di riempimento prefissato (Fixed Fill Time) da usare con il Q0 trapping è 20 ms o maggiore.	EMS, EMC, EPI, ER, e MS/MS/MS

Elemento	Parametro	Tipo Parametro	Utilizzo	Tipo scansione
3	CAD Gas (Gas CAD)	Sorgente e gas	Il parametro CAD controlla la pressione del gas CAD nella camera di collisione durante le scansioni Q3, MS/MS. Per le scansioni Q3 il gas di collisione aiuta a focalizzare gli ioni mentre passano attraverso la camera di collisione Q2. Il valore del parametro CAD è preimpostato in modalità fissa. Per le scansioni di tipo MS/MS, il gas CAD aiuta a frammentare gli ioni precursori. Quando gli ioni precursori collidono con il gas di collisione, si dissociano e formare ioni prodotto. Usare il valore preimpostato e ottimizzarlo per il composto.	Q3 MI, Q3 MS, MRM, Prec, NL, EMS, ER, EPI, MS/MS/MS, EMC e TDF
3	Collision Energy (CE) (Energia di Collisione (CE))	Composto	Il parametro CE controlla la differenza di potenziale tra la regione Q0 e la camera di collisione Q2. È usato solo nelle scansioni di tipo MS/MS. Questo parametro corrisponde alla quantità di energia che gli ioni precursori ricevono quando sono accelerati nella camera di collisione Q2, dove collidono con le molecole di gas e i frammenti. Usare il valore preimpostato e ottimizzarlo per il composto.	MRM, MS2, Prec, NL
3	Collision Cell Exit Potential (CXP) (Potenziale uscita camera di collisione (CXP))	Composto	Il parametro CXP è impiegato solo nelle scansioni di tipo Q3 e MS/MS, dove trasmette gli ioni nel quadrupolo Q3. Usare il valore preimpostato e ottimizzarlo per il composto.	Q3, MRM, MS2, Prec, e NL
4	CEM (CEM)	Rivelatore	Il parametro CEM controlla il voltaggio applicato al rivelatore. Il voltaggio controlla la risposta del rivelatore.	Tutte

Istruzioni operative — Batch 9

Un batch è una collezione di informazioni riguardanti i campioni da analizzare. I batch comunicano al software l'ordine secondo il quale i campioni devono essere analizzati. Per ulteriori informazioni sull'importazione dei batch, fare riferimento alla *Guida alle Funzioni Avanzate per l'Utente*.

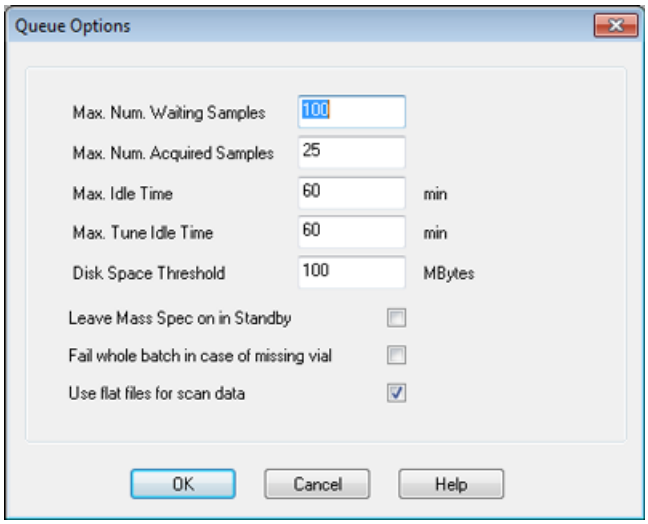
Impostazione delle opzioni della coda

La coda procede lungo l'elenco dei campioni, acquisendoli uno a uno con il metodo di acquisizione selezionato. Dopo che tutti i campioni sono stati acquisti, la coda si interrompe e lo spettrometro di massa entra in modalità **Standby**. In modalità **Standby**, le pompe LC e le tensioni di alcuni strumenti sono disinserite.

L'utente può modificare la durata del tempo massimo di attività della coda dopo che l'ultima acquisizione è stata terminata, prima che il software Analyst® ponga lo spettrometro di massa in modalità **Standby**. Per maggiori informazioni sugli altri campi della finestra di dialogo **Queue Options** (Opzioni coda), fare riferimento al menu Help (Guida).

1. Nella barra di navigazione, fare clic su **Configure**.
2. Fare clic su **Tools** > **Settings** > **Queue Options** (Strumenti - Impostazioni - Opzioni coda).

Figura 9-1 Finestra di dialogo Queue Options (Opzioni coda)



3. Nel campo **Max. Num. (Num.) Waiting Samples** (Num. max. campioni in attesa), impostare il numero massimo di campioni a un valore maggiore rispetto al numero di campioni che verranno inviati alla coda.

4. Nel campo **Max. Idle Time** (Tempo inattività max.), immettere il tempo massimo durante il quale la coda sarà posta in attesa dopo che l'ultima acquisizione sarà stata completata, prima di passare in modalità **Standby**. Il valore preimpostato è 60 minuti.

   Se si usano le bombole per il gas, regolare questa durata per assicurarsi che il gas delle bombole non si esaurisca.

   Se si usa un metodo LC, prima dell'esecuzione bisogna assicurarsi che ci sia abbastanza solvente nei serbatoi, perché tutti i campioni vengono eseguiti alla velocità di flusso primaria e per il tempo massimo di inattività.

5. Selezionare la casella **Leave Mass Spec on in Standby** (Lascia spett. di massa in standby) affinché lo spettrometro di massa funzioni dopo il completamento dell'analisi. Questa funzione consente a riscaldatori e gas di continuare a funzionare anche dopo che i dispositivi sono entrati in stato **Idle** (Inattivo), così la sorgente di ionizzazione e l'ingresso allo spettrometro di massa vengono mantenuti privi di contaminanti.

6. Selezionare la casella **Fail Whole Batch in Case of Missing Vial** (Annulla lotto intero in caso di fiala mancante) per annullare l'intero lotto qualora vi sia una fiala mancante. Se questa opzione non è selezionata, verrà annullato solo il campione corrente e la coda passerà al campione successivo.

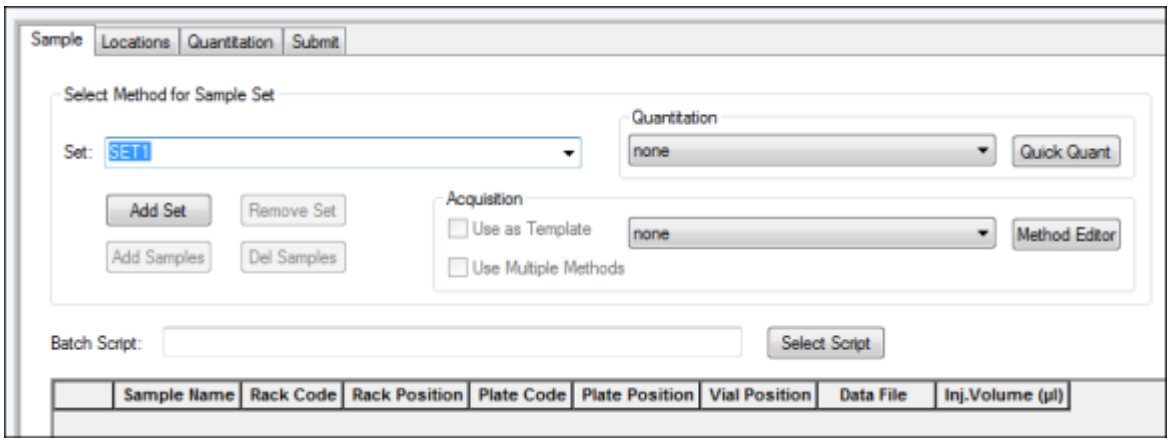
Aggiunta di gruppi e campioni ad un batch

Un set può comprendere un campione singolo o più campioni.

Nota: Per maggiori informazioni sull'aggiunta di informazioni quantitative a un batch, fare riferimento alla *Guida alle Funzioni Avanzate per l'Utente*.

1. Nella barra di navigazione, alla voce **Acquire**, fare doppio clic su **Build Acquisition Batch** (Crea batch di acquisizione).

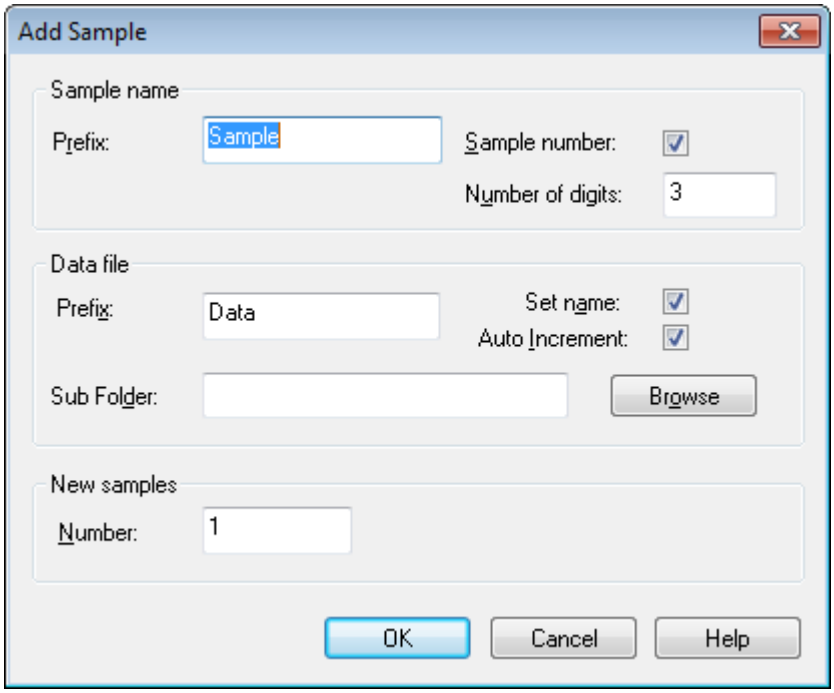
Figura 9-2 Finestra di dialogo Batch Editor (Editor batch)



2. Nella scheda **Sample**, nell'elenco **Set**, immettere un nome.
3. Fare clic su **Add Set** (Aggiungi set).

4. Fare clic su **Add Samples** (Aggiungi campioni) per aggiungere campioni al nuovo gruppo.

Figura 9-3 Finestra di dialogo Aggiungi campione



5. Alla sezione **Sample name** (Nome campione), nel campo **Prefix** (Prefisso), immettere un nome per i campioni di questo gruppo.
6. Per aggiungere una numerazione progressiva al termine del nome del campione, spuntare la casella **Sample number** (Numero campione).
7. Se la casella di controllo **Sample number** (Numero campione) è selezionata, immettere il numero di cifre da includere nel nome del campione nel campo **Number of digits** (Numero cifre).

   Ad esempio, se si immette 3, i nomi dei campioni saranno nomedelcampione001, nomedelcampione002 e nomedelcampione003.
8. Alla sezione **Data file** (File dati), nel campo **Prefix** (Prefisso), immettere un nome per il file di dati che archivierà le informazioni sul campione.
9. Spuntare la casella **Set name** (Nome set) per usare il nome del set come parte del nome del file di dati.
10. Spuntare la casella **Auto Increment** (Incremento automatico) per impostare la numerazione progressiva automatica dei nomi dei file di dati.

Nota: I dati per ogni campione possono essere archiviati nello stesso file o in un file di dati separato. I nomi dei file di dati avranno suffissi numerici con 1 come valore di partenza.

11. Immettere un nome nel campo **Sub Folder** (Sottocartella).

La cartella sarà archiviata nella cartella **Data** (Dati) del progetto corrente. Se il campo **Sub Folder** (Sottocartella) è lasciato vuoto, il file di dati sarà archiviato nella cartella **Data** (Dati) e non sarà creata alcuna sottocartella.

12. Alla sezione **New samples** (Nuovi campioni), nel campo **Number** (Numero), immettere il numero dei nuovi campioni.
13. Fare clic su **OK**.

    La tabella dei campioni sarà compilata con i nomi dei campioni e i nomi dei file di dati.

> **Suggerimento!** Le opzioni Fill Down e **Auto Increment sono disponibili nel menu attivato col pulsante destro, dopo che è stata selezionata l'intestazione di una colonna o diverse righe in una colonna.**

14. Nella scheda **Sample** (Campione), alla sezione **Acquisition** (Acquisizione), selezionare un metodo dall'elenco.

    Si dovranno inserire informazioni specifiche sull'autocampionatore, se questo è incluso nella configurazione del sistema. Anche se il volume dell'iniezione è impostato nel metodo, l'utente può cambiare tale valore per uno o più campioni modificandolo nella colonna Injection Volume (Volume iniezione).

> **Nota:** Per usare metodi diversi per alcuni dei campioni presenti in questo set, selezionare la casella di controllo **Use Multiple Methods** (Usa più metodi). La colonna **Acquisition Method** (Metodo acquisizione) è mostrata nella tabella **Sample** (Campione). Selezionare il metodo di acquisizione per ciascun campione in questa colonna.

15. Per modificare i volumi delle iniezioni rispetto a quelli elencati nel metodo nella colonna **Inj. Volume (µL)**, immettere il volume dell'iniezione per ogni campione.
16. Indicare le posizioni delle vial nella colonna **Vial Position** (Posizione vial).

> **Nota:** Per riempire automaticamente i campioni dalla scheda **Locations** (Posizioni), fare clic sulla prima e sull'ultima vial all'interno di un set, tenendo premuto il tasto **Shift** (Maiusc). Queste vial sono visualizzate sotto forma di cerchi rossi. Sulla scheda **Locations** (Posizioni), è possibile effettuare più iniezioni dalla stessa vial, premendo il tasto **Ctrl** e facendo contemporaneamente clic sulla posizione della vial. Il cerchio passa dal rosso al verde.

17. (Opzionale) Usare le procedure della *Tabella 9-1* come richiesto.

Tabella 9-1 Suggerimenti di Batch Editor (Editor batch)

Per fare questo...	...fare questo
Per modificare tutti i valori in una colonna contemporaneamente	fare clic sull'intestazione di una colonna e poi fare clic col destro. Usare i comandi **Auto Increment** (Incremento automatico) e **Fill Down** (Ricopia in basso) dal menu per modificare i valori nella colonna. Questo funziona anche per più celle nella stessa colonna.
Per modificare un metodo di acquisizione esistente	selezionare il metodo e fare clic su **Method Editor** (Editor metodo) dall'elenco. Per creare un nuovo metodo di acquisizione, selezionare **None** (Nessuno) dall'elenco e fare clic su **Method Editor** (Editor metodo). Solo gli utenti esperti dovrebbero utilizzare questa opzione. Non utilizzare questa opzione se è selezionata l'opzione **Use Multiple Methods** (Usa più metodi).
Per applicare un metodo di quantificazione creato in precedenza	selezionare il metodo dall'elenco **Quantitation** (Quantificazione).
Per selezionare più di un pozzetto o una vial simultaneamente	tenere premuto il tasto **Shift** (Maiusc) e fare clic sul primo e sull'ultimo pozzetto o fiala nell'intervallo.

18. Per impostare le posizioni dei campioni, seguire una delle procedure qui sotto:
    - *Impostazione della posizione dei campioni nel Batch Editor a pagina 79*
    - *Selezione della posizione delle vial tramite la scheda Locations (opzionale) a pagina 79*
19. Fare clic sulla scheda **Submit** (Invia).
20. Se la sezione **Submit Status** (Invia stato) contiene un messaggio sullo stato del batch, compiere una tra le seguenti operazioni:
    - Se il messaggio indica che il batch è pronto per l'invio, saltare al passo 21.
    - Se il messaggio indica che il batch non è pronto per l'invio, apportare le modifiche come indicato nel messaggio.
21. Fare clic su **Submit**.

    Si apre la finestra di dialogo **Acquisition** (Acquisizione).
22. Salvare il file.

Invio di un campione o un set di campioni

1. Fare clic sulla scheda **Submit** (Invia) nel **Batch Editor** (Editor lotto).

2. Se la sezione **Submit Status** (Invia stato) contiene un messaggio sullo stato del lotto, compiere una tra le seguenti operazioni:
   - Se il messaggio indica che il lotto è pronto per l'invio, andare al passo *3*.
   - Se il messaggio indica che il lotto non è pronto per l'invio, apportare le modifiche come indicato nel messaggio.
3. Fare clic su **Submit**.
4. Salvare il file.

Modifica dell'ordine dei campioni

L'ordine dei campioni può essere modificato prima che gli stessi siano inviati in **Queue** (Coda).

- Nella scheda **Submit** (Invia), fare doppio clic su uno dei numeri all'estrema sinistra della tabella (sarà visualizzata una casella trasparente) e poi trascinarli fino alla nuova posizione.

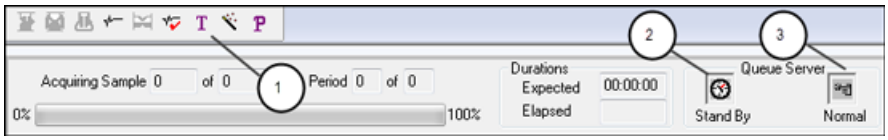
Acquisizione dati

Il sistema non deve essere in modalità **Tune and Calibrate** (Sintonizza e calibra) quando si avvia l'acquisizione dei campioni. Inoltre, se il sistema è stato già avviato durante la giornata e non è stato ancora impostato sulla modalità **Standby** (Standby), l'acquisizione dei campioni inizierà automaticamente.

1. Nella barra di navigazione, fare clic su **Acquire** (Acquisisci).
2. Fare clic su **View > Sample Queue** (Visualizza > Coda campioni).

   Si aprirà il **Queue Manager** (Gestione coda) con tutti i campioni inviati.

Figura 9-4 Queue Manager



Elemento	Descrizione
1	L'icona **Reserve Instrument for Tuning** (Prenota strumento per sintonizzazione) non deve essere premuta.
2	Lo stato della coda deve essere in modalità **Stand By** (Standby).
3	Il Queue Server deve essere in modalità **Normal** (Normale). Fare riferimento a *Stati della coda a pagina 83*.

3. Fare clic su **Acquire > Start Sample** (Acquisisci > Avvia campione).

Nota: Il produttore raccomanda di eseguire nuovamente il campione in caso di arresto anomalo durante l'acquisizione del campione.

Impostazione della posizione dei campioni nel Batch Editor

Se si usa un autocampionatore nel metodo di acquisizione, allora la posizione delle vial dei campioni deve essere definita nel batch di acquisizione. Definire la posizione nella scheda **Sample** (Campione) o nella scheda **Locations** (Posizioni). Per maggiori informazioni sulla creazione dei batch, fare riferimento a *Aggiunta di gruppi e campioni ad un batch a pagina 74*.

Nota: In base al tipo di autocampionatore usato, potrebbe non essere necessario immettere ulteriori dettagli nelle colonne aggiuntive.

1. Nella scheda **Sample** (Campione), dall'elenco **Set**, selezionare il set.
2. Eseguire le operazioni di seguito, se necessario, per ognuno dei campioni del set:
   - Nella colonna **Rack Code** (Codice rack), selezionare il tipo di rack.
   - Nella colonna **Rack Position** (Posizione rack), selezionare la posizione del rack nell'autocampionatore.
   - Nella colonna **Plate Code** (Codice piatto), selezionare il tipo di piatto.
   - Nella colonna **Plate Position** (Posizione piatto), selezionare la posizione del piatto nel rack.
   - Nella colonna **Vial Position** (Posizione vial), immettere la posizione della vial nel piatto o nel vassoio.
3. Salvare il file.

Selezione della posizione delle vial tramite la scheda Locations (opzionale)

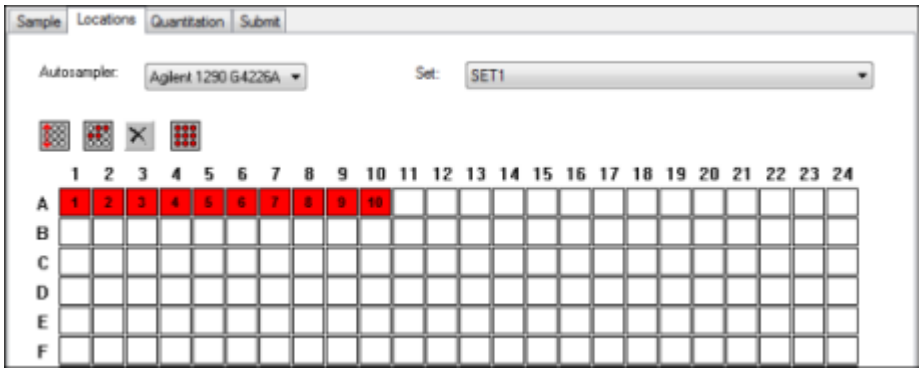
1. Fare clic sulla scheda **Locations** (Posizioni) nel **Batch Editor** (Editor lotto).
2. Selezionare il set dall'elenco **Set**.
3. Selezionare l'autocampionatore dall'elenco **Autosampler** (Autocampionatore).

   Il numero corretto degli spazi del rack per l'autocampionatore è mostrato nella rappresentazione grafica del rack.
4. Nello spazio associato al rack, fare clic col destro e selezionare il tipo di rack.

   I piatti o i vassoi sono mostrati nel rack.
5. Fare doppio clic su uno dei rettangoli.

   Appariranno dei cerchi che indicano i pozzetti o le vial per il piatto o il vassoio.

Figura 9-5 Scheda Posizioni



6. Per selezionare se i campioni devono essere marcati per riga o per colonna, fare clic sul pulsante **Row/Column selection** (Selezione riga/colonna).

   Se il pulsante mostra una linea rossa orizzontale, il **Batch Editor** (Editor lotto) marca i campioni per riga. Se il pulsante mostra una linea rossa verticale, il **Batch Editor** marca i campioni per colonna.

7. Fare clic sui pozzetti o le vial dei campioni nell'ordine in cui andranno analizzati. Fare clic nuovamente su un pozzetto o una vial già selezionati per cancellarli.

8. Salvare il file.

Suggerimento! Per compilare automaticamente i campioni, premere il tasto **Shift** (Maiusc) mentre si fa clic sulla prima e sull'ultima fiala all'interno di un set. Per eseguire più iniezioni dalla stessa fiala, premere il tasto **Ctrl** mentre si fa clic sulla posizione della fiala. I cerchietti rossi diventeranno di colore verde.

Impostazione dei dettagli di quantificazione nel Batch Editor (opzionale)

Se si sta utilizzando un metodo di quantificazione con un lotto e non si desidera selezionare dettagli di quantificazione post-acquisizione, definire i dettagli di quantificazione prima di inviare un lotto.

Le opportune colonne **Internal Standard** (Standard interno) e **Standard** compaiono nella scheda **Quantitation** in base al metodo di quantificazione selezionato nella scheda **Sample** (Campione).

1. Con un file batch aperto nella finestra **Batch Editor**, fare clic sulla scheda **Quantitation** (Quantificazione).
2. Selezionare il gruppo contenente i campioni.
3. Selezionare un **Quant Type** (Tipo quant) per tutti i campioni dall'elenco nella cella.
4. Se applicabile, immettere la concentrazione di picco nella colonna **Analyte** (Analita).
5. Se applicabile, immettere l'**Internal Standard** (Standard interno).
6. Ripetere questa procedura per ciascun gruppo del batch.

7. Salvare il file.

Nota: L'ordine dei campioni può essere modificato prima che gli stessi siano inviati alla coda. Per modificare l'ordine di un campione, nella scheda **Submit** (Invia), fare doppio clic su uno qualsiasi dei numeri all'estrema sinistra della tabella (si vedrà una casella quadrata molto sfocata), quindi trascinarlo nella nuova posizione.

Arresto dell'acquisizione dei campioni

Quando si arresta l'acquisizione dei campioni, la scansione in corso verrà ultimata e poi si procederà all'arresto dell'acquisizione.

1. Nel **Queue Manager** (Gestione coda) fare clic sul campione in coda successivo al punto in cui l'acquisizione dovrebbe essere arrestata.
2. Nella barra di navigazione, fare clic su **Acquire** (Acquisisci).
3. Fare clic su **Acquire > Stop Sample** (Acquisisci > Arresta campione).

   La coda si arresterà dopo che la scansione in corso del campione selezionato sarà stata completata. Lo stato del campione nella finestra **Queue Manager (Local)** (Gestione coda (locale)) cambia in **Terminated** (Terminato) e tutti gli altri campioni successivi della coda hanno lo stato **Waiting** (In attesa).
4. Per continuare ad elaborare il batch, fare clic su **Acquire > Start Sample** (Acquisisci > Avvia campione).

Importazione e trasmissione dei file di batch

Gli utenti possono importare un file di testo contenente informazioni sul lotto invece che creare un lotto nel **Batch Editor** (Editor lotto). Se tutti i dettagli del campione sono contenuti in un foglio di calcolo, sarà più rapido riorganizzare e importare i dati nel foglio di calcolo che digitare manualmente i dati nel **Batch Editor** (Editor lotto).

Prima di importare le informazioni del lotto da un file di testo, verificare che i dati contenuti nel file siano correttamente organizzati e formattati. In particolare, le intestazioni delle colonne sul foglio di calcolo devono corrispondere a quelle delle colonne del **Batch Editor** (Editor lotto).

Costruzione di un batch sotto forma di file di testo

Per essere certi che il file di testo includa le opportune intestazioni, creare un batch utilizzando il **Batch Editor** (Editor batch), esportarlo come file di testo, immettere i valori appropriati in un editor di fogli di calcolo e reimportare il file nel **Batch Editor** (Editor batch). Gli utenti possono esportare un batch solo se contiene come minimo un set con almeno un campione. Il file di testo salvato può essere utilizzato anche in seguito come modello.

1. Verificare che il profilo hardware attivo includa tutti i dispositivi da utilizzare per acquisire i campioni.
2. Nel **Batch Editor** (Editor batch), creare un batch a singolo set e singolo campione.

3. Fare clic su **File > Export** (File > Esporta).

   Si apre la finestra di dialogo **Save As** (Salva con nome).

4. Digitare il nome per il file di testo nel campo **File name** (Nome file), quindi fare clic su **Save** (Salva).
5. Aprire il file di testo su un programma di foglio di calcolo come Microsoft Excel.
6. Immettere, oppure copiare e incollare, i dettagli dei campioni: un campione per riga, con i dettagli sotto le relative intestazioni.

   Nota: Non cancellare nessuna colonna. Le colonne del foglio di calcolo devono corrispondere a quelle del **Batch Editor** (Editor batch).

7. Salvare il file di testo modificato con estensione .txt o .csv, quindi chiudere il programma di foglio di calcolo.

   Il file di testo è ora pronto per essere importato nel **Batch Editor** (Editor batch).

Importazione di un batch sotto forma di file di testo

1. Nel **Batch Editor** (Editor lotti), nella scheda **Sample** (Campione), fare clic con il tasto destro del mouse, quindi fare clic su **Import From > File** (Importa da - File).

   Si aprirà la finestra di dialogo **Open.**

2. Fare clic sul file di testo richiesto, quindi su **Open** (Apri).

   Se si utilizza un autocampionatore, si aprirà la finestra di dialogo **Select Autosampler** (Seleziona autocampionatore).

   Nota: Se il file di testo salvato non compare nell'elenco **Files of type** (Tipo di file), selezionare **Microsoft Text Driver (*.txt; *.csv)**. I file con estensione .txt compaiono nel campo.

3. Nell'elenco degli autocampionatori, selezionare l'autocampionatore e fare clic su **OK**.

   La tabella campioni viene compilata con i dettagli tratti dal file di testo.

4. Inviare il batch.

Menu pulsante destro del Batch Editor

Fare clic con il tasto destro nella tabella **Batch Editor** (Editor batch) per accedere alle opzioni.

Menu	Funzione
Open	Apre un file di dati.
Import From	Importa un file.
Save As Batch	Salva il batch con un altro nome.
Save As a Template	Salva il batch come un modello. Usato con l'opzione Express View.

Menu	Funzione
Hide/Show Column	Nasconde o mostra una colonna.
Save Column Settings	Salva le impostazioni della colonna del batch.
Add Custom Column	Aggiunge una colonna personalizzata.
Delete Custom Column	Cancella una colonna personalizzata.
Fill Down	Copia gli stessi dati nelle celle selezionate.
AutoIncrement	Incrementa automaticamente i dati nelle celle selezionate.
Delete Samples	Cancella la riga selezionata.
Select Autosampler	Seleziona un autocampionatore.

Stati della coda e stato del dispositivo

Il **Queue Manager mostra lo stato della coda, del batch e del campione.** Possono essere visualizzate informazioni più dettagliate su un determinato campione in coda.

Stati della coda

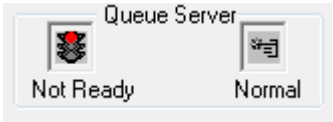
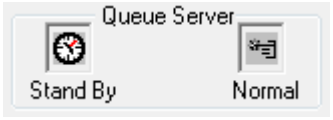
Lo stato attuale della coda è indicato nel **Queue Server**.

Figura 9-6 Indicatore del Queue Server che mostra la modalità normal

Figura 9-7 Indicatore del Queue Server che mostra la modalità di sintonizzazione

La prima icona mostra lo stato della coda. La seconda icona indica se la coda è in modalità **Tune** (Sintonizzazione) (per la sintonizzazione) o **Normal** (Normale) (per l'esecuzione dei campioni). La *Tabella 9-2* descrive le icone e gli stati della coda.

Tabella 9-2 Stati della coda

Icone	Stato	Definizione
	Not Ready	Il profilo hardware viene disattivato e la coda non accetta l'invio di altri campioni.
	Stand By	Il profilo hardware è stato attivato, ma tutti i dispositivi sono inattivi. Le pompe non girano e l'erogazione dei gas è sospesa.
	Warming Up	Lo spettrometro di massa e i dispositivi sono in fase di equilibratura, le colonne si stanno condizionando, l'ago dell'autocampionatore viene lavato e i forni a colonna stanno raggiungendo la temperatura impostata. La durata di equilibratura è selezionata dall'operatore. Da questo stato, il sistema potrà passare allo stato **Ready** (Pronto).
	Pronto	Il sistema è pronto ad elaborare i campioni, i dispositivi sono stati equilibrati e sono pronti per l'esecuzione. In questo stato la coda può ricevere campioni e sarà messa in esecuzione dopo che i campioni saranno stati inviati.
	Waiting	Il sistema inizierà automaticamente l'acquisizione quando si invierà il campione successivo.
	PreRun	Il metodo è in fase di scaricamento su ciascun dispositivo e l'equilibratura dei dispositivi è in corso. Questo stato sarà attivato prima dell'acquisizione di ciascun campione in un batch.
	Acquiring	Il metodo viene eseguito e ha luogo l'acquisizione dei dati.
	In pausa	Il sistema è stato messo in pausa durante l'acquisizione.

Visualizzazione delle icone di stato dello strumento e dei dispositivi

Le icone che rappresentano lo spettrometro di massa e ciascun dispositivo nella configurazione hardware attiva appaiono sulla barra di stato, nell'angolo inferiore destro della finestra. L'utente può visualizzare in

dettaglio lo stato di una pompa LC per determinare se la pressione della pompa LC è appropriata o visualizzare in dettaglio lo stato dello spettrometro di massa per controllare la temperatura della sorgente di ionizzazione.

Nota: Per ogni stato il colore di fondo può essere rosso. Lo sfondo rosso significa che il dispositivo ha riscontrato un errore mentre era in quello stato.

- Sulla barra di stato, fare doppio clic sull'icona del dispositivo o dello spettrometro di massa.

  Si apre la finestra **Instrument Status** (Stato strumento).

Tabella 9-3 Icone di stato dello strumento e dei dispositivi

Stato	Icona	Colore di fondo	Descrizione
Idle		Verde o giallo	Il dispositivo non è in funzione. Se il colore di sfondo è giallo, il dispositivo dovrebbe essere equilibrato prima di essere pronto all'esecuzione. Se il colore di sfondo è verde, il dispositivo è pronto all'esecuzione.
Equilibrating		Verde o giallo	Il dispositivo si sta equilibrando.
Waiting		Verde	Il dispositivo è in attesa di un comando dal software o da un altro dispositivo, oppure di un'azione da parte dell'operatore.
Running		Verde	Il dispositivo sta eseguendo un lotto.
Aborting		Verde	Il dispositivo sta annullando un'operazione.
Downloading		Verde	É in corso il trasferimento di un metodo al dispositivo.
Ready		Verde	Il dispositivo non è in esecuzione, ma è pronto all'esecuzione.
Error		Rosso	Il dispositivo ha riscontrato un errore che deve essere scoperto e corretto.

Menu tasto destro Queue

Fare clic con il tasto destro del mouse nella tabella **Queue** (Coda) per accedere alle opzioni.

Menu	Funzione
Sample Details	Apre la finestra di dialogo **Sample Details** (Dettagli campione).
Reacquire	Acquisisce nuovamente un campione.
Insert Pause	Inserisce una pausa, in secondi, tra due campioni.

Menu	Funzione
Delete	Cancella il batch o i campioni selezionati.
Move Batch	Sposta i batch nella coda.
Sort	Ordina in base alla colonna preselezionata.
Column Settings	Modifica le impostazioni della colonna.

Istruzioni Operative — Analisi ed elaborazione dei dati 10

Utilizzare i file di esempio installati nella cartella **Example** (Esempio) per imparare come visualizzare e analizzare i dati utilizzando gli strumenti di elaborazione e di analisi più comuni. Per ulteriori informazioni su questi argomenti, fare riferimento alla *Guida alle Funzioni Avanzate per l'Utente*.

- Etichettatura dei grafici
- Sovrapposizione e somma degli spettri o dei cromatogrammi
- Eseguire sottrazioni dello sfondo
- Algoritmi di smussamento
- Lavorare con dati smussati
- Lavorare con dati calcolati da centroide
- Lavorare con i contour plot
- Lavorare con lo strumento di interpretazione dei frammenti
- Lavorare con i database e i record delle librerie

Apertura dei file di dati

Suggerimento! Per disattivare l'aggiornamento automatico dello spettro di massa, fare clic col destro sullo spettro di massa e poi fare clic su **Show Last Scan**. Se compare un segno di spunta vicino a **Show Last Scan** (Mostra ultima scansione), lo spettro si aggiornerà in tempo reale.

1. Nella barra di navigazione, sotto **Explore** (Esplora), fare doppio clic su **Open Data File** (Apri file dati).
2. Nell'elenco **Data Files** (File dati), raggiungere il file di dati da aprire, selezionare un campione e fare clic su **OK**.

   Si apre la finestra di dialogo **Select Sample** (Seleziona campione). Saranno mostrati i dati acquisiti dal campione. Se l'acquisizione di dati è ancora in corso, lo spettro di massa, il tracciato DAD/UV e il TIC continueranno ad aggiornarsi automaticamente.

Navigazione tra i campioni in un file di dati

Nota: La *Tabella E-5 a pagina 152* mostra le icone di navigazione usate in questa procedura. Se i campioni sono stati salvati in file di dati separati, allora aprire ogni file singolarmente.

- Aprire un file di dati e scegliere una delle seguenti opzioni:

- Fare clic sull'icona con la freccia che punta a destra per passare al campione successivo nel file di dati.
- Fare clic sull'icona con la freccia che curva a destra per passare a un campione non sequenziale.
- Selezionare il campione nella finestra di dialogo **Select Sample** (Seleziona campione), dall'elenco **Sample** (Campione).
- Fare clic sull'icona con la freccia che punta a sinistra per passare al campione precedente nel file di dati.

Mostra Condizioni Sperimentali

Le condizioni sperimentali usate per raccogliere i dati sono memorizzate nei file di dati assieme ai risultati. L'informazione contiene i dettagli del metodo di acquisizione usato: il metodo di acquisizione MS (ossia il numero di periodi, esperimenti e cicli) che comprende i parametri dello strumento e il metodo del dispositivo HPLC (velocità di flusso della pompa LC). Inoltre contiene la risoluzione MS e le tabelle di calibrazione della massa usate per l'acquisizione del campione. La *Tabella 10-1* mostra la funzionalità del software disponibile quando l'utente visualizza le informazioni sul file.

- Fare clic su **Explore > Show > Show File Information** (Esplora - Mostra - Mostra informazioni file).

  Sotto il grafico appare il riquadro **File Information** (Informazioni file).

Suggerimento! Per creare un metodo di acquisizione dal riquadro **File Information** (Informazioni file), fare clic col tasto destro del mouse sul riquadro **File Information** e fare clic su **Save Acquisition Method** (Salva metodo acquisizione).

Tabella 10-1 Menu tasto destro del riquadro Show File Information (Mostra informazioni file)

Menu	Funzione
Copia	Copia i dati selezionati.
Paste	Incolla i dati.
Select All	Seleziona tutti i dati nel riquadro.
Save To File	Salva i dati come file .rtf.
Font	Modifica il carattere.
Save Acquisition Method	Salva il metodo di acquisizione come file .dam.

Tabella 10-1 Menu tasto destro del riquadro Show File Information (Mostra informazioni file) (continua)

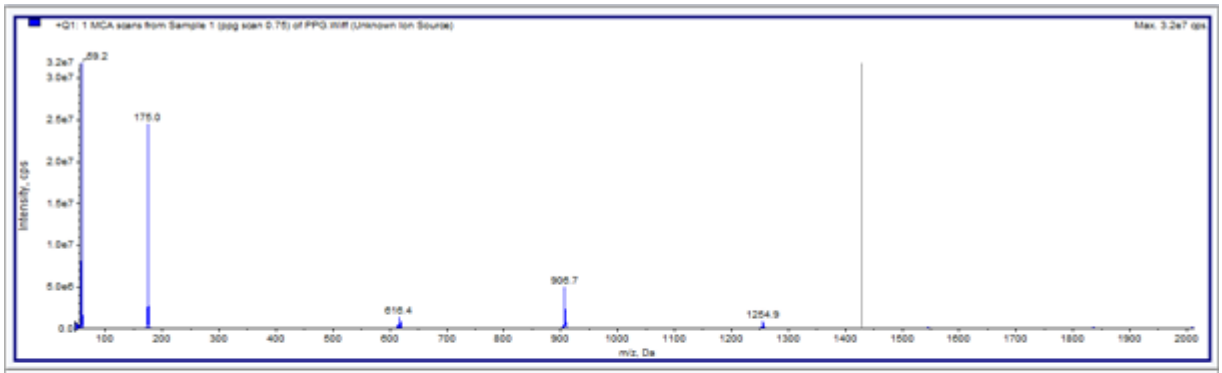
Menu	Funzione
Save Acquisition Method to CompoundDB	Apre la finestra di dialogo **Specify Compound Information** (Specifica informazioni composto). Selezionare gli **IDs** e i pesi molecolari da salvare nel database dei composti.
Delete Pane	Cancella il riquadro selezionato.

Visualizzazione dei dati in tabelle

1. Aprire un file di dati.
2. Fare clic su **Explore > Show > Show List Data** (Esplora > Mostra > Mostra dati elenco).

   I dati sono mostrati in un riquadro sotto il grafico.

Figura 10-1 Scheda Peak List (Elenco picchi)



+Q1: 1 MCA scans from Sample 1 (ppg scan 0.75) of PPG.Wiff (Unknown Ion Source)

Data List | Peak List

	m/z (Da)	Centroid mass (Da)	Resolution	Intensity (cps)	Peak area (counts)	Charges	Peak start (Da)	Peak end (Da)	Width (Da)	% Intensity	% Centroid
1	57.1693	57.0887	85.9625	8.1076e6	5.0642e7	Undefined	56.5672	57.4704	0.6641	25.4540	50.0000
2	58.0726	58.0901	Undefined	4.5920e5	1.2688e6	Undefined	57.5708	58.2733	Undefined	1.4417	83.7544
3	59.1765	59.0717	83.0227	3.1852e7	2.1693e8	Undefined	58.4740	59.4776	0.7115	100.0000	50.0000
4	60.0798	60.0668	89.1772	1.6240e6	6.1594e6	Undefined	59.5780	60.4812	0.6736	5.0986	50.0000
5	173.0500	173.0187	239.3394	2.5236e6	1.7223e7	Undefined	172.4471	173.4520	0.7229	7.9229	50.0000
6	174.0549	174.0474	Undefined	4.4680e5	2.1078e6	Undefined	173.5525	174.2559	Undefined	1.4027	87.9812
7	174.9593	175.0612	237.1904	2.4469e7	1.7158e8	Undefined	174.5573	175.5617	0.7381	76.8215	50.0000
8	176.0635	176.1104	262.3466	2.6356e6	1.4569e7	1	175.6620	176.4650	0.6713	8.2745	50.0000
9	177.0672	177.0476	265.6308	7.2800e5	4.0984e6	1	176.5654	177.4687	0.6665	2.2856	50.0000
10	612.4245	612.4245	Undefined	3.8320e5	1.3760e6	Undefined	612.4245	613.0306	Undefined	1.2031	100.0000
11	614.4450	614.3404	696.0333	4.3380e5	3.3590e6	Undefined	613.7379	614.8491	0.8826	1.3619	50.0000
12	616.3644	616.3409	843.5254	1.3294e6	9.4090e6	1	615.7583	616.8652	0.7307	4.1737	50.0000
13	617.3641	617.3607	Undefined	4.7720e5	3.1644e6	1	616.8652	617.9627	Undefined	1.4982	54.7360
14	619.4594	619.4607	Undefined	9.0480e5	7.4368e6	Undefined	617.9627	619.5591	Undefined	2.8406	94.3744
15	904.5495	904.5497	1112.6366	4.1808e5	3.1972e6	Undefined	903.9834	905.1566	0.8130	1.3129	50.0000

Tabella 10-2 Menu pulsante destro per la scheda Spectral Peak List (Elenco picchi spettrali)

Menu	Funzione
Column Options	Apre la finestra di dialogo **Select Columns for Peak List** (Seleziona colonne per elenco picchi).
Save As Text	Salva i dati come file .txt.
Delete Pane	Cancella il riquadro selezionato.

Tabella 10-3 Menu pulsante destro per scheda Chromatographic Peak List (Elenco picchi cromatografici)

Menu	Funzione
Show Peaks in Graph	Mostra i picchi in due colori nel grafico.
IntelliQuan Parameters	Apre la finestra di dialogo **Intelliquan**.
Save As Text	Salva i dati come file .txt.
Delete Pane	Cancella il riquadro selezionato.

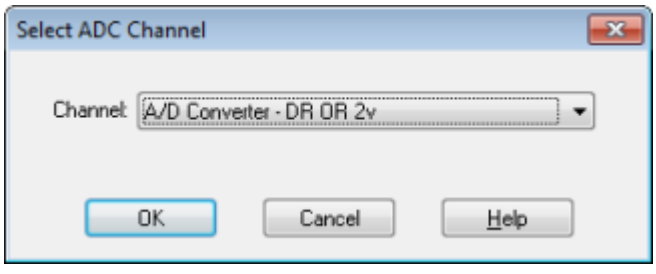
Visualizzazione dei dati ADC

I dati del convertitore analogico-digitale (ADC) sono acquisiti da un rivelatore secondario (ad esempio da un rivelatore UV attraverso una scheda ADC) e sono utili per il confronto con i dati dello spettrometro di massa. Per mettere a disposizione i dati ADC, acquisirli contemporaneamente ai dati dello spettrometro di massa e salvarli tutti nello stesso file.

1. Aprire un file di dati contenente i dati ADC.
2. Fare clic su **Explore > Show > Show ADC Data** (Esplora > Mostra > Mostra dati ADC).

   Si apre la finestra di dialogo **Select ADC Channel** (Seleziona canale ADC).

Figura 10-2 Finestra di dialogo Select ADC Channel (Seleziona canale ADC)



3. Dall'elenco **Channel** (Canale), selezionare un canale.
4. Fare clic su **OK**.

I dati ADC si aprono in un nuovo riquadro sotto il riquadro attivo.

Visualizzazione dei dati quantitativi di base

1. Aprire un file di dati.
2. Fare clic su **Explore > Show > Show List Data** (Esplora - Mostra - Mostra dati elenco).
3. Nella scheda **Peak List** (Elenco picchi), fare clic con il tasto destro del mouse e selezionare **Show Peaks in Graph** (Mostra picchi nel grafico).

   I picchi sono visualizzati in due colori.
4. Per modificare le impostazioni dell'algoritmo di rilevamento dei picchi, fare clic con il pulsante destro, quindi selezionare **Analyst Classic Parameters** o **Intelliquan Parameters**, secondo quale dei due è attivo.
5. (Opzionale) Per rimuovere i picchi colorati, fare clic col tasto destro del mouse sulla scheda **Peak List** (Elenco picchi), quindi deselezionare **Show Peaks in Graph** (Mostra picchi nel grafico).

Cromatogrammi

Per maggiori informazioni sull'uso delle icone disponibili, fare riferimento alla *Tabella 10-8 a pagina 101*.

Tabella 10-4 Tipi di cromatogrammi

Tipi di cromatogrammi	Funzione
TIC (Total Ion Chromatogram - Cromatogramma corrente di ionizzazione totale)	Una visualizzazione cromatografica generata tracciando l'intensità di tutti gli ioni in una scansione rispetto al tempo o al numero della scansione. Quando si apre un file di dati, questo è preimpostato per aprirsi in forma di TIC. Se l'esperimento contiene una sola scansione, è mostrato sotto forma di spettro. Se la casella di controllo **MCA** è selezionata durante l'acquisizione del file di dati, allora il file di dati si aprirà sotto forma di spettro di massa. Se la casella di controllo **MCA** non è selezionata, il file di dati si aprirà sotto forma di TIC.
XIC (Extracted Ion Chromatogram - Cromatogramma ioni estratti)	Un cromatogramma degli ioni creato prendendo da una serie di scansioni spettrali di massa i valori di intensità a un valore unico e distinto di massa o in un range di massa. Indica il comportamento di una data massa, o di un range di massa, in funzione del tempo.
BPC (Base Peak Chromatogram - Cromatogramma picco base)	Diagramma cromatografico che mostra l'intensità dello ione più intenso all'interno di una scansione in funzione del tempo o del numero della scansione.

Tabella 10-4 Tipi di cromatogrammi (continua)

Tipi di cromatogrammi	Funzione
TWC (Total Wavelength Chromatogram - Cromatogramma lunghezze d'onda totali)	Una visualizzazione cromatografica creata sommando tutti i valori di assorbanza nel range delle lunghezze d'onda acquisite e tracciando i valori rispetto al tempo. Consiste nella somma delle assorbanze di tutti gli ioni in una scansione, tracciate rispetto al tempo in un riquadro cromatografico.
XWC (Extracted Wavelength Chromatogram - Cromatogramma lunghezze d'onda estratte)	Un sottogruppo del TWC. Uno XWC mostra l'assorbanza per una singola lunghezza d'onda o la somma dell'assorbanza per un range di lunghezze d'onda.
DAD (Diode Array Detector - Rivelatore a serie di diodi)	Un rivelatore UV che controlla lo spettro di assorbimento dei composti eluenti a una o più lunghezze d'onda.

Visualizzazione dei i TIC da uno spettro

Per vedere un esempio di file di dati, verificare che il progetto **Example** (Esempio) sia selezionato. Aprire la cartella **Triple Quad**, quindi aprire il file **Mix_batch_1.wiff**.

- Fare clic su **Explore > Show > Show TIC** (Esplora - Mostra - Mostra TIC).

  Si aprirà il TIC in un nuovo riquadro.

  Suggerimento! Fare clic col destro su un riquadro contenente uno spettro, poi fare clic su **Show TIC**.

Visualizzazione di uno spettro da un TIC

1. Se un riquadro contiene un TIC, selezionare un range.
2. Fare clic su **Explore > Show > Show Spectrum** (Esplora > Mostra > Mostra spettro).

   Si aprirà lo spettro in un nuovo riquadro.

   Suggerimento! Fare doppio clic sul riquadro **TIC** in un dato valore di tempo per mostrare lo spettro.

Informazioni sulla generazione di XIC

Gli XIC possono essere generati solo da cromatogrammi o spettri con singolo periodo e singolo esperimento. Per ottenere uno XIC da dati multi-esperimento o multi-periodo, dividere i dati in riquadri separati facendo clic sul triangolo posto sotto l'asse x. Per maggiori informazioni sull'uso delle icone disponibili, fare riferimento alla *Tabella 10-8 a pagina 101*.

Sono disponibili diversi metodi per estrarre gli ioni necessari per generare uno XIC a partire da dati cromatografici o spettrali. La *Tabella 10-5* contiene un riassunto dei metodi che possono essere usati con i cromatogrammi e gli spettri.

Tabella 10-5 Riepilogo dei metodi di generazione degli XIC

Metodo	Utilizzo con cromatogramma	Utilizzo con spettro	Estrazione
Selected Range	No	Sì	Estrae gli ioni da un'area selezionata in uno spettro.
Maximum	No	Sì	Estrae gli ioni da un'area selezionata in uno spettro usando il picco più intenso nell'area selezionata. Questa opzione genera uno XIC utilizzando la massa maggiore dall'intervallo spettrale selezionato.
Base peak masses	Sì	Sì	Può essere usato solo con i cromatogrammi picco base (BPC). L'uso del comando **Use Base Peak Masses** (Usa masse picco base) per estrarre gli ioni genera uno XIC con un tracciato di colore diverso per ogni massa. Se la selezione include diversi picchi, lo XIC risultante avrà un numero corrispondente di tracciati colorati che rappresentano ciascuna massa.
Specified masses	Sì	Sì	Estrae gli ioni da qualsiasi tipo di spettro o cromatogramma. Selezionare fino a dieci masse di inizio e fine da cui generare gli XIC.

Generazione di uno XIC utilizzando un intervallo selezionato

1. Aprire un file di dati contenente gli spettri.
2. Selezionare un intervallo premendo il pulsante sinistro del mouse all'inizio dell'intervallo, trascinando il cursore fino al punto finale e rilasciando il pulsante del mouse.

   La selezione è indicata in blu.
3. Fare clic su **Explore > Extract Ions > Use Range** (Esplora - Estrai ioni - Usa intervallo).

   Uno XIC della selezione si aprirà in un riquadro sotto il riquadro dello spettro. Le informazioni sull'esperimento nell'intestazione del riquadro contengono il range di massa e l'intensità massima in conteggi al secondo.

Generazione di uno XIC usando il picco massimo

1. Aprire un file di dati contenente gli spettri.

2. Selezionare un range.

   La selezione è indicata in blu.

3. Fare clic su **Explore > Extract Ions > Use Maximum** (Esplora - Estrai ioni - Usa massimo).

   Uno XIC della selezione specificata di picco massimo si aprirà in un riquadro sotto il riquadro dello spettro. Le informazioni sull'esperimento nell'intestazione del riquadro contengono il range di massa e l'intensità massima in conteggi al secondo.

Generazione di uno XIC tramite le masse dei picchi di base

1. Aprire un file di dati contenente gli spettri.
2. Selezionare il picco da cui estrarre gli ioni in un BPC.

   La selezione è indicata in blu.

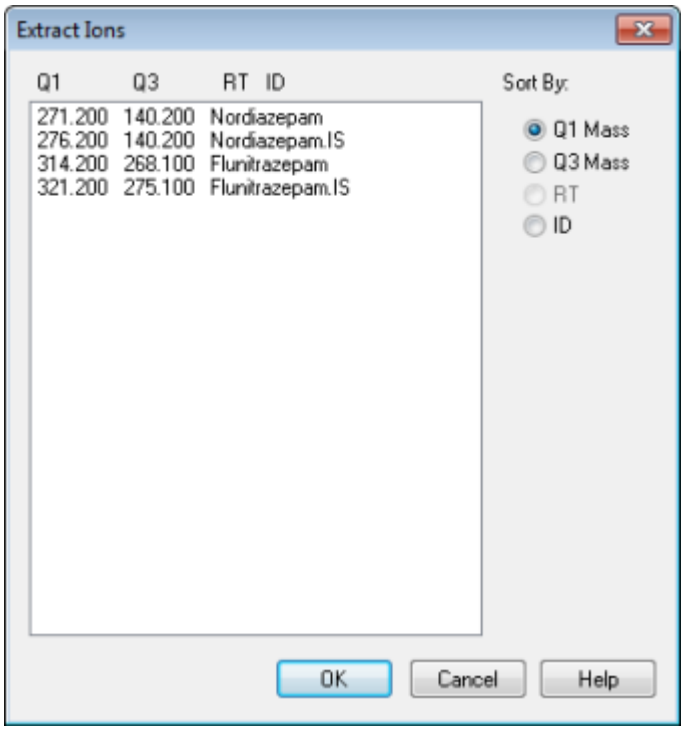
3. Fare clic su **Explore > Extract Ions > Use Base Peak Masses** (Esplora - Estrai ioni - Usa masse picco base).

   Uno XIC della selezione specificata si aprirà sotto il riquadro dello spettro. Le informazioni sull'esperimento nell'intestazione del riquadro mostrano il range di massa e l'intensità massima in conteggi al secondo.

Estrazione di ioni tramite selezione delle masse

1. Aprire uno spettro o un cromatogramma.
2. Fare clic su **Explore > Extract Ions > Use Dialog** (Esplora - Estrai ioni - Usa finestra di dialogo).

Figura 10-3 Finestra di dialogo Extract Ions (Estrai ioni)



3. Immettere i valori in base ai quali sarà creato ciascuno XIC. Se non si immette un valore di fine, il range sarà definito dal valore di inizio.

   - Nel campo **Start**, immettere il valore di inizio (valore più basso) del range di massa.
   - Nel campo **Stop**, immettere il valore di fine (valore più alto) del range di massa.

4. Fare clic su **OK**.

   Uno XIC della selezione si aprirà sotto il riquadro del cromatogramma. Le informazioni sull'esperimento nell'intestazione del riquadro includono le masse e l'intensità massima in conteggi al secondo.

Generazione dei BPC

I cromatogrammi picco base (BPC) possono essere generati solo a partire dai dati di un singolo periodo e di un singolo esperimento.

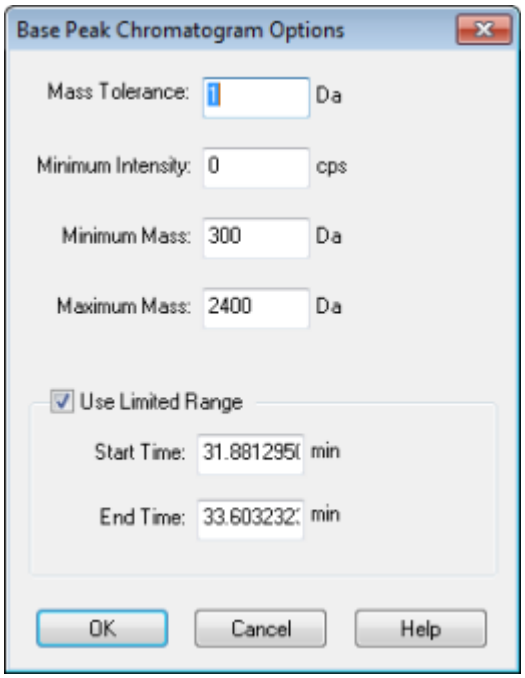
1. Aprire un file di dati.
2. Selezionare un area all'interno di un TIC.

   La selezione è indicata in blu.

3. Fare clic su **Explore > Show > Show Base Peak Chromatogram** (Esplora - Mostra - Mostra cromatogramma picco di base).

   Le selezioni sono mostrate nei campi **Start Time** (Ora inizio) e **End Time** (Ora fine).

Figura 10-4 Base Peak Chromatogram Options (Opzioni cromatogramma picco di base)



4. Nel campo **Mass Tolerance** (Tolleranza massa), immettere il valore per indicare l'intervallo di massa usato per trovare un picco. Il software troverà il picco usando un valore pari al doppio del range immesso (± il valore della massa).
5. Inserire l'intensità sotto la quale i picchi vengono ignorati dall'algoritmo nel campo **Minimum Intensity** (Intensità minima).
6. Inserire la massa che determina l'inizio dell'intervallo di scansione nel campo **Minimum Mass** (Massa minima).
7. Inserire la massa che determina la fine dell'intervallo di scansione nel campo **Maximum Mass** (Massa massima).
8. Per impostare i tempi di inizio e fine, spuntare la casella **Use Limited Range** e immettere quanto segue:
   - Nel campo **Start Time**, immettere il tempo che determina l'inizio dell'esperimento.
   - Nel campo **End Time**, immettere il tempo che determina la fine dell'esperimento.
9. Fare clic su **OK**.

   Il BPC si aprirà in un nuovo riquadro.

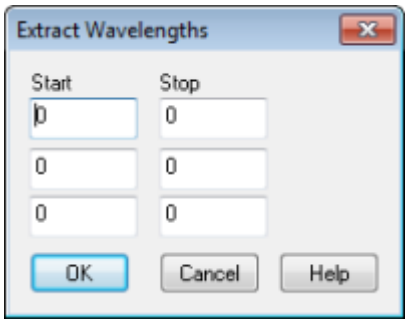
Generazione deglii XWC

È possibile estrarre fino a tre intervalli da uno spettro DAD per generare lo XWC. Per maggiori informazioni sull'uso delle icone disponibili, fare riferimento alla *Tabella 10-8 a pagina 101*.

1. Aprire un file di dati che contiene uno spettro DAD.

2. Fare clic col destro del mouse in un punto qualsiasi del riquadro, quindi fare clic su **Extract Wavelengths** (Estrai lunghezze d'onda).

Figura 10-5 Finestra di dialogo Extract Wavelengths (Estrai lunghezze d'onda)



3. Digitare i valori di **Start** (Inizio) e **Stop** (Fine).
4. Fare clic su **OK**.

   Lo XWC si aprirà in un riquadro sotto lo spettro DAD.

Generazione di dati DAD

Come accade per i dati dello spettrometro di massa, i dati DAD possono essere visualizzati sotto forma di cromatogramma o spettro.

1. Aprire un file di dati contenente dati acquisiti con un DAD.

   Il TWC, che è analogo a un TIC, si aprirà in un riquadro sotto il TIC.
2. Nel riquadro **TWC**, fare clic su un punto per selezionare un determinato punto nel tempo o evidenziare un'area dello spettro per selezionare un intervallo di tempo.
3. Fare clic su **Explore > Show > Show DAD Spectrum** (Esplora > Mostra > Mostra spettro DAD).

   Lo spettro DAD si aprirà in un riquadro sotto il TWC. L'asse Y mostra l'assorbanza e l'asse X mostra la lunghezza d'onda.

Suggerimento! Se il riquadro con il TWC è chiuso, fare clic su un punto qualunque nel TWC per riaprirlo. Fare clic su **Explore > Show > Show DAD TWC** (Esplora - Mostra - Mostra DAD TWC).

Generazione dei TWC

Un TWC mostra l'assorbanza totale (in mAU) sull'asse X, tracciata rispetto al tempo sull'asse X. Per maggiori informazioni sull'uso delle icone disponibili, fare riferimento alla *Tabella 10-8 a pagina 101*.

1. Aprire un file di dati che contiene uno spettro DAD.
2. Fare clic su **Explore > Show > Show DAD TWC** (Esplora - Mostra - Mostra DAD TWC).

   Il TWC si aprirà in un riquadro sotto lo spettro DAD.

Suggerimento! Fare clic col destro dentro il riquadro contenente lo spettro DAD e poi fare clic su **Show DAD TWC** (Mostra DAD TWC).

Regolazione della soglia

La soglia è una linea invisibile tracciata parallelamente all'asse X di un grafico, che imposta un limite al di sotto del quale il software non includerà i picchi in uno spettro. La linea ha un puntatore, rappresentato da un triangolo blu sulla sinistra dell'asse Y. Fare clic su sul triangolo blu per mostrare una linea punteggiata che rappresenta la soglia. La soglia può essere alzata o abbassata, ma modificare il valore della soglia non comporterà modifiche ai dati. Il software non etichetta alcun picco nella regione che si trova al di sotto della soglia.

1. Aprire un file di dati.
2. Compiere una delle seguenti operazioni:

   - Per alzare la soglia, trascinare il triangolo blu verso l'alto nell'asse Y. Per abbassare la soglia, trascinare il triangolo blu verso il basso.
   - Fare clic su **Explore > Set Threshold** (Esplora - Imposta soglia). Nella finestra di dialogo **Threshold Options** (Opzioni soglia) che appare, immettere il valore della soglia e fare clic su **OK**.
   - Fare clic su **Explore > Threshold** (Esplora - Soglia).

   Il grafico sarà aggiornato per mostrare la nuova soglia. Saranno aggiornati anche l'elenco dei picchi e l'etichettatura dei picchi.

Riquadri del cromatogramma

Tabella 10-6 Menu pulsante destro per i riquadri cromatogramma

Menu	Funzione
List Data	Elenca i punti dei dati ed integra i picchi trovati nei cromatogrammi.
Show Spectrum	Genera un nuovo riquadro contenente lo spettro.
Show Contour Plot	Mostra un diagramma di un set di dati codificato in base al colore, dove il colore rappresenta l'intensità dei dati in quel determinato punto. Sono supportate solo alcune modalità MS.
Extract Ions	Estrae un determinato ione o un set di ioni da un riquadro selezionato e poi genera un nuovo riquadro contenente un cromatogramma per gli ioni specificati.
Show Base Peak Chromatogram	Genera un nuovo riquadro contenente un cromatogramma dei picchi di base.
Show ADC Data	Genera un nuovo riquadro contenente il tracciato dei dati UV, se sono stati acquisiti.

Tabella 10-6 Menu pulsante destro per i riquadri cromatogramma (continua)

Menu	Funzione
Show UV Detector Data	Genera un nuovo riquadro contenente il tracciato dei dati UV, se sono stati acquisiti.
Spectral Arithmetic Wizard	Apre lo Spectral Arithmetic Wizard.
Save to Text File	Genera un file di testo a partire dal riquadro, che può essere aperto in Excel o con altri programmi.
Save Explore History	Salva le informazioni sui cambiamenti ai parametri di elaborazione, noti anche come **Processing Options** (Opzioni di elaborazione), definiti quando un file .wiff è stato elaborato in modalità **Explore** (Esplora). La cronologia dell'elaborazione è memorizzata in un file con un estensione .EPH (Explore Processing History).
Add Caption	Aggiunge una didascalia alla posizione del cursore nel riquadro.
Add User Text	Aggiunge una casella di testo alla posizione del cursore nel riquadro.
Set Subtract Range	Imposta il range di sottrazione nel riquadro.
Clear Subtract Range	Cancella il range di sottrazione nel riquadro.
Subtract Range Locked	Blocca o sblocca i range di sottrazione. Se i range di sottrazione non sono bloccati, ogni range di sottrazione può essere spostato in maniera indipendente. I range di sottrazione sono preimpostati come bloccati.
Delete Pane	Cancella il riquadro selezionato.

Riquadri spettro

Tabella 10-7 Menu pulsante destro per i riquadri spettro

Menu	Funzione
List Data	Elenca i punti dei dati ed integra i cromatogrammi.
Show TIC	Genera un nuovo riquadro contenente il TIC.
Extract Ions (Use Range)	Estrae un determinato ione o un set di ioni da un riquadro selezionato e poi genera un nuovo riquadro contenente un cromatogramma per gli ioni specificati.
Extract Ions (Use Maximum)	Estrae gli ioni usando il picco più intenso in un'area selezionata.
Save to Text File	Genera un file di testo a partire dal riquadro, che può essere aperto in Excel o altri programmi.

Tabella 10-7 Menu pulsante destro per i riquadri spettro (continua)

Menu	Funzione
Save Explore History	Salva le informazioni sui cambiamenti ai parametri di elaborazione, noti anche come **Processing Options** (Opzioni di elaborazione), definiti quando un file .wiff è stato elaborato in modalità **Explore** (Esplora). La cronologia dell'elaborazione è memorizzata in un file con un estensione .EPH (Explore Processing History).
Add Caption	Aggiunge una didascalia alla posizione del cursore nel riquadro.
Add User Text	Aggiunge una casella di testo alla posizione del cursore nel riquadro.
Show Last Scan	Mostra la scansione precedente alla selezione.
Select Peaks For Label	In questa finestra di dialogo si possono selezionare i parametri per ridurre l'etichettatura dei picchi.
Delete Pane	Cancella il riquadro selezionato.
Add a Record	Aggiunge un record e i dati relativi al composto, inclusi gli spettri, nella libreria. É necessario uno spettro attivo per eseguire quest'attività.
Search Library	Lancia una ricerca nella libreria senza restrizioni o con le restrizioni salvate in precedenza.
Set Search Constraints	Cerca la libreria usando i criteri inseriti nella finestra di dialogo **Search Constraints** (Vincoli ricerca).

Elaborazione dei dati

I dati grafici possono essere elaborati in molti modi. Questa sezione fornisce informazioni e procedure per usare alcuni tra gli strumenti adoperati più frequentemente.

L'utente può ingrandire una parte di un grafico per visualizzare un determinato picco o un'area a un maggior livello di dettaglio, sia negli spettri, sia nei cromatogrammi. L'utente può anche ingrandire ripetutamente per visualizzare i picchi più piccoli.

Si consiglia agli utenti di non utilizzare le funzioni Subsetting (Sottoconfigurazione) incluse nel software .

Grafici

Gli stessi dati possono essere esaminati in modi diversi. I dati possono essere mantenuti anche per essere confrontati tra loro prima di effettuare operazioni di elaborazione, come lo smussamento o la sottrazione.

Una finestra che contiene uno o più riquadri è disposta in modo tale che tutti i riquadri sono pienamente visibili e non sovrapposti.

I riquadri potrebbero essere di dimensioni variabili o fisse. I riquadri sono automaticamente affiancati nella finestra e disposti in formato riga/colonna. Se la dimensione di una finestra viene modificata, i riquadri all'interno della finestra si ridimensionano per adattarsi alla nuova dimensione. Una finestra non può essere ridimensionata fino al punto in cui uno dei riquadri dovesse essere più piccolo della dimensione minima ammessa.

Due o più finestre o riquadri contenenti dati simili possono essere collegati. Ad esempio, gli spettri con range di massa simili. Quando un riquadro o una finestra vengono ingranditi, l'altro riquadro viene ingrandito contemporaneamente. Ad esempio, l'utente può collegare uno XIC al BPC dal quale lo XIC è stato estratto. L'ingrandimento del BPC ingrandisce lo XIC, in modo tale che entrambi i cromatogrammi abbiano lo stesso fattore di ingrandimento.

Gestione dei dati

- Per la gestione dei dati nei grafici usare le seguenti opzioni di menu.

Tabella 10-8 Opzioni Grafico

Per fare questo...	usare questa opzione nel menu...	...o fare clic su quest'icona
Copiare un grafico in una nuova finestra.	Selezionare il grafico da copiare. Fare clic su **Explore > Duplicate Data > In New Window** (Esplora - Duplica dati - In nuova finestra).	
Riportare il grafico alle sue dimensioni originali.	Selezionare il grafico. Fare clic su **Explore > Home Graph** (Esplora - Grafico iniziale).	
Spostare un riquadro	• Selezionare il grafico. Fare clic su **Window > Move Pane** (Finestra - Sposta riquadro). • Selezionare il riquadro o la finestra, poi trascinarli fino alla nuova posizione. Questa posizione può essere nella stessa finestra o in un'altra finestra. Una freccia a quattro punte viene visualizzata quando il cursore si trova sul bordo della finestra o del riquadro attivo. • Se il riquadro è nella parte superiore o inferiore del riquadro di destinazione, il riquadro si sposta al di sopra o al di sotto di tale riquadro. • Se il riquadro è alla sinistra o alla destra del riquadro di destinazione, il riquadro si sposta alla sinistra o alla destra di tale riquadro. • Se il riquadro è in qualsiasi altra posizione, il riquadro si sposta alla riga di destinazione. L'ombra del riquadro che compare quando si sposta il riquadro indica la sua nuova posizione.	

Tabella 10-8 Opzioni Grafico (continua)

Per fare questo...	usare questa opzione nel menu...	...o fare clic su quest'icona
Collegare i riquadri	a. Mentre si hanno due grafici aperti, fare clic su uno di questi per rendere attivo tale riquadro. b. Fare clic su **Explore > Link** (Esplora - Collega), quindi fare clic sull'altro riquadro.	
Rimuovere il collegamento	Chiudere uno dei riquadri. Fare clic su **Explore > Remove Link** (Esplora - Rimuovi collegamento).	
Cancellare un riquadro	Selezionare il grafico. Fare clic su **Window > Delete Pane** (Finestra - Elimina riquadro).	
Bloccare un riquadro	Selezionare il grafico. Fare clic su **Window > Lock Panes** (Finestra - Blocca riquadri).	
Nascondere un riquadro	Selezionare il grafico. Fare clic su **Window > Hide Pane** (Finestra - Nascondi riquadro).	
Ingrandire un riquadro a tutto schermo	Selezionare il grafico. Fare clic su **Window > Maximize Pane** (Finestra - Riquadro a tutto schermo).	
Affiancare i riquadri	Selezionare il grafico. Fare clic su **Window > Tile all Panes** (Finestra - Affianca tutti i riquadri).	

Ingrandimento sull'asse Y

1. Spostare il puntatore a sinistra dell'asse y su uno dei due lati dell'area da espandere, quindi trascinare dal punto di partenza in direzione verticale tenendo premuto il pulsante sinistro del mouse.

   Apparirà una casella lungo l'asse Y che rappresenta la nuova scala.

   Nota: Fare attenzione quando si ingrandisce la linea di base. Se si ingrandisce troppo, la casella di ingrandimento scompare.

2. Rilasciare il bottone del mouse per disegnare il grafico con la nuova scala.

Ingrandimento sull'asse X

Suggerimento! Per riportare il grafico alla dimensione originale, fare doppio clic su uno degli assi. Per riportare l'intero grafico alle dimensioni originali, fare clic su **Explore > Home Graph** (Esplora - Grafico originale).

1. Spostare il puntatore sotto l'asse x su uno dei due lati dell'area da espandere, quindi trascinare dal punto di partenza in direzione orizzontale tenendo premuto il pulsante sinistro del mouse.

2. Rilasciare il bottone del mouse per disegnare il grafico con la nuova scala.

Istruzioni Operative — Analisi ed elaborazione dei dati quantitativi 11

Usare i file di esempio contenuti nella cartella **Example** (Esempio) per apprendere come selezionare i campioni per la quantificazione, come selezionare le query preimpostate e creare query per una determinata tabella, e come analizzare i dati acquisiti. Per ulteriori informazioni su questi argomenti, fare riferimento alla *Guida alle Funzioni Avanzate per l'Utente*.

- **Metric Plot**
- Disposizione di una **Results Table** (Tabella dei risultati)

Analisi quantitativa

L'analisi quantitativa è usata per determinare la concentrazione di una particolare sostanza in un campione. Analizzando un campione sconosciuto e confrontandolo con altri campioni contenenti la stessa sostanza in concentrazioni note (standard), il software può calcolare la concentrazione del campione sconosciuto. Il processo comporta la creazione di una curva di calibrazione basata sugli standard e successivamente il calcolo della concentrazione del campione sconosciuto. Le concentrazioni calcolate di ciascun campione sono quindi disponibili in una **Results Table** (Tabella dei risultati).

Metodi di quantificazione

Un metodo di quantificazione è un set di parametri usato per generare i picchi in un campione. Il metodo di quantificazione può includere parametri utilizzati per individuare e integrare i picchi, generare le curve degli standard e calcolare le concentrazioni sconosciute. Un metodo di quantificazione precedentemente salvato può essere selezionato dal menu **Quantitation** (Quantificazione) nel lotto. Per informazioni sulla creazione di un batch, fare riferimento a *Aggiunta di gruppi e campioni ad un batch a pagina 74*.

L'utente può creare un metodo di quantificazione prima dell'acquisizione dei dati e poi applicare automaticamente il metodo ai dati quantitativi dopo che il batch è stato completato. In alternativa un metodo di quantificazione può essere creato e applicato dopo l'acquisizione.

Possono essere usati tre strumenti per creare un metodo di quantificazione: **Quantitation Wizard** (Procedura guidata quantificazione), **Build Quantitation Method** (Crea metodo quantificazione) e **Quick Quant** (Quant. rapida).

Procedura guidata di quantificazione

Nel **Quantitation Wizard** (Procedura guidata di quantificazione) viene generata una **Results Table** (Tabella dei risultati) nello stesso momento in cui si crea il metodo di quantificazione. In alternativa un metodo di quantificazione esistente può essere usato per quantificare differenti set di dati. Questo è il modo più comune per creare un metodo di quantificazione.

Crea metodo di quantificazione

L'opzione **Build Quantitation Method** (Crea metodo di quantificazione) non genera una **Results Table** (Tabella dei risultati) di quantificazione, anche se il metodo può essere impiegato in seguito nel **Quantitation Wizard** (Procedura guidata di quantificazione) per creare una **Results Table** (Tabella dei risultati). L'opzione **Build Quantitation Method** (Crea metodo di quantificazione) può essere impiegata anche per modificare i metodi di quantificazione esistenti. Questo è il modo più flessibile per creare un metodo di quantificazione.

Quant rapida

La **Quick Quant** (Quantificazione rapida) fa parte del **Batch Editor** (Editor batch). Utilizzare la **Quick Quant** (Quantificazione rapida) per aggiungere la concentrazione dei composti prima dell'acquisizione dei dati. Dato che non è stato acquisito alcun campione, non può essere selezionato alcun campione rappresentativo, né possono essere verificati i picchi. Questo processo permette di definire solo i componenti del metodo.

Note sulle Results Tables

Le Results Table riassumono la concentrazione calcolata di un analita in ogni campione sconosciuto in base alla curva di calibrazione. **Le Results Table comprendono anche le curve di calibrazione e le statistiche relative ai risultati.** L'utente può personalizzare la **Results Table** (Tabella dei risultati) e visualizzare le varie **Results Tables** (Tabelle dei risultati) in una certa disposizione.

I dati di una **Results Table** (Tabella dei risultati) possono essere esportati in un file .txt per l'uso in altre applicazioni, come Microsoft Excel. L'utente può anche esportare i dati contenuti nell'intera tabella o solo nelle colonne visibili.

Metodi quantitativi e tabelle dei risultati

Per le procedure descritte di seguito, usare i dati di esempio che sono forniti e installati con il software. **PK Data** contiene i lotti **Mix_Batch1** e **Mix_Batch2**. Questi batch di esempio sono usati per dimostrare l'utilità dei metric plot (diagramma delle metriche) per isolare i campioni problematici. Gli ioni scansionati sono reserpina (609,3/195,0), minoxidil (210,2/164,2), tolbutamide (271,1/91,1) e rescinnamina (635,3/221,2), che è lo standard interno. Il Batch 1 non contiene errori in termini di preparazione del campione, mentre il Batch 2 contiene un campione di QC in cui lo standard interno è stato aggiunto due volte (campione QC2).

Creazione di un metodo usando il Quantitation Method Editor

Prerequisiti
• *Commutazione tra progetti e sottoprogetti a pagina 44* • *Visualizzazione dei dati quantitativi di base a pagina 91*

1. Nella barra di navigazione, alla voce **Quantitate** (Quantifica), fare doppio clic su **Build Quantitation Method** (Crea metodo di quantificazione).

   Si apre la finestra di dialogo **Select Sample** (Seleziona campione).

2. Nell'elenco **Data Files** (File dati), fare doppio clic sulla cartella **Triple Quad** (Triplo quadrupolo).

3. Selezionare **Mix_Batch_2. wiff**.

   I campioni del file di dati selezionato appaiono nell'elenco **Samples** (Campioni).

   Nota: Se il campo **Compound ID** (ID composto) è stato compilato per i campioni e gli standard interni nel metodo di acquisizione, allora nella tabella **Internal Standards** (Standard interni), quando si seleziona un valore nel campo **Q1/Q3**, il campo **Name** (Nome) sarà compilato automaticamente.

4. Fare clic su **OK**.
5. Nella tabella **Internal Standards** (Standard interni), nella colonna **Name** (Nome), selezionare la rescinnamina (635.3/221.2).
6. Impostare la tabella **Analytes** come di seguito:

   a. Nella colonna **Name**, selezionare reserpine.

   b. Nella colonna **Internal Standard**, selezionare lo standard interno da associare ad ogni analita.

   c. Nella colonna Q1/Q3, selezionare 609.3/195.0.

   d. Aggiungere uno o più composti, se necessario, per un'analisi più complessa.

   Nota: Se il campo **Compound ID** (ID composto) è stato compilato per i campioni e gli standard interni nel metodo di acquisizione, allora nella tabella **Analytes** (Analiti) i campi **Name** (Nome) e **Q1/Q3** saranno già compilati.

7. Fare clic sulla scheda **Integration** (Integrazione).

   I parametri di integrazione preimpostati sono adatti per la maggior parte dei campioni.

8. Se l'integrazione non è adatta, cambiare l'algoritmo.
9. Fare clic sull'icona **Show or Hide Parameters** (Mostra o nascondi parametri) per mostrare gli algoritmi di integrazione supplementari.
10. Fare clic sulla scheda **Calibration** (Calibrazione).

    I parametri preimpostati sono adatti per questi campioni.

11. Salvare il metodo di quantificazione.

    Il nuovo metodo può essere usato quando si crea un batch nel **Batch Editor** (Editor batch) o quando il **Quantitation Wizard** (Procedura guidata di quantificazione) è impiegato per generare una **Results Table** (Tabella dei risultati).

    Suggerimento! Il metodo di quantificazione può essere usato solo nel progetto attivo, a meno che non sia copiato in un altro progetto. Per fare questo, fare clic su **Tools > Project > Copy Data** (Strumenti > Progetto > Copia dati). Un nuovo progetto dovrà essere creato e selezionato per essere utilizzato.

Creazione di una Results Table usando il Quantitation Wizard

Prerequisiti
• *Commutazione tra progetti e sottoprogetti a pagina 44* • *Visualizzazione dei dati quantitativi di base a pagina 91*

1. Sulla barra di navigazione, alla voce **Quantitate** (Quantifica), fare doppio clic su **Quantitation Wizard** (Procedura guidata quantificazione).

   Si apre la pagina **Create Quantitation Set - Select Samples** (Crea set quantificazione - Seleziona campioni).
2. Fare doppio clic sulla cartella **Triple Quad** (Triplo quad.) nell'elenco **Available Data Files** (File dati disponibili).
3. Selezionare **Mix_batch_2. wiff**.
4. Fare clic su **Add All** (Aggiungi tutto).

   Nota: Si consiglia di non elaborare o creare rapporti con i risultati provenienti da campioni per i quali l'acquisizione è terminata in modo anomalo o imprevisto.
5. Fare clic su **Next**.

   Si apre la pagina **Create Quantitation Set - Select Settings & Query** (Crea set quantificazione - Seleziona impostazioni e query).
6. Fare clic su **Select Existing: Query** (Seleziona esistente: query) nella sezione **Default Query** (Query predefinita).
7. Selezionare **Accuracy 15%** (Precisione 15%) dall'elenco **Query**.

   Nota: Per creare una query nello stesso momento, fare riferimento a *Creazione di una query standard a pagina 108*.
8. Fare clic su **Next**.

   Si apre la pagina **Create Quantitation Set - Select Method** (Crea set quantificazione - Seleziona metodo).
9. Fare clic su **Choose Existing Method** (Scegli metodo esistente).
10. Selezionare **PK Data_Mix.qmf** dall'elenco **Method** (Metodo).
11. Fare clic su **Finish**.

    Si apre la **Results Table** (Tabella risultati).

Suggerimento! Per aggiungere o rimuovere campioni nella **Results Table** (Tabella risultati), fare clic su **Tools > Results Table > Add/Remove Samples** (Strumenti - Tabella risultati - Aggiungi/rimuovi campioni).

12. Salvare la **Results Table**.

Nota: Si consiglia di non modificare i nomi dei file di dati (.wiff) se una **Results Table** contiene campioni provenienti da quel file.

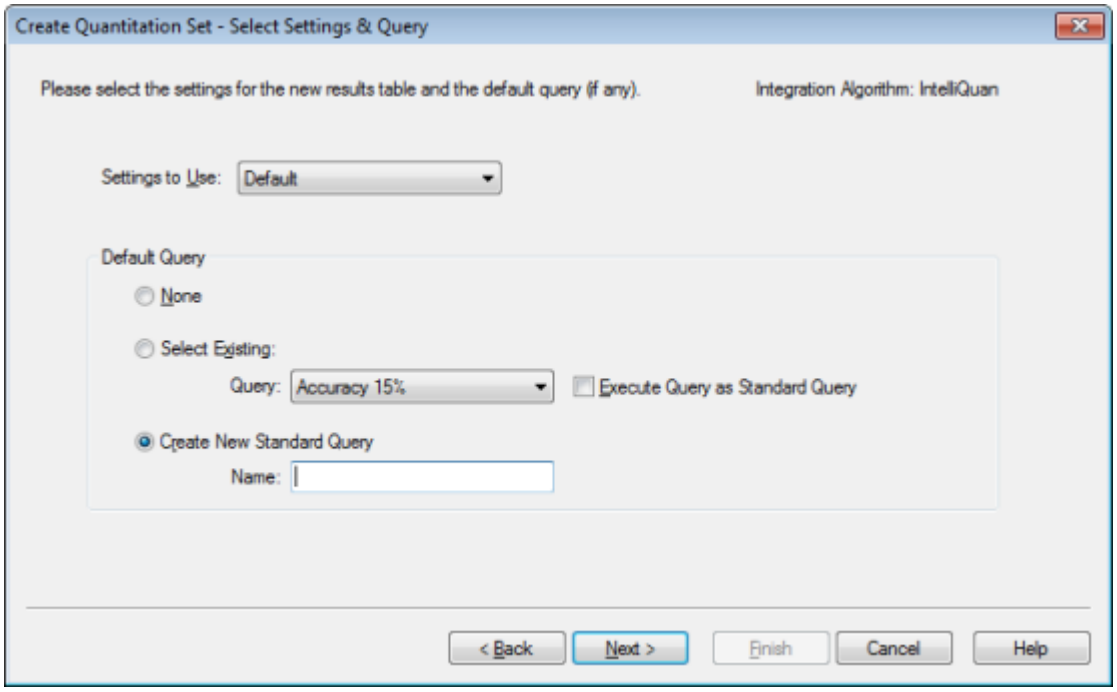
Suggerimento! È possibile creare rapporti correttamente formattati da una **Results Table** utilizzando il software Reporter. Si raccomanda all'utente di convalidare i risultati se si utilizza un modello Reporter contenente una query. Fare riferimento a *Software Reporter a pagina 122*.

Creazione di una query standard

Una query e una standard query possono essere create in diversi modi. Di seguito un esempio. Per maggiori informazioni sulla creazione delle query, fare riferimento al menu Help del software.

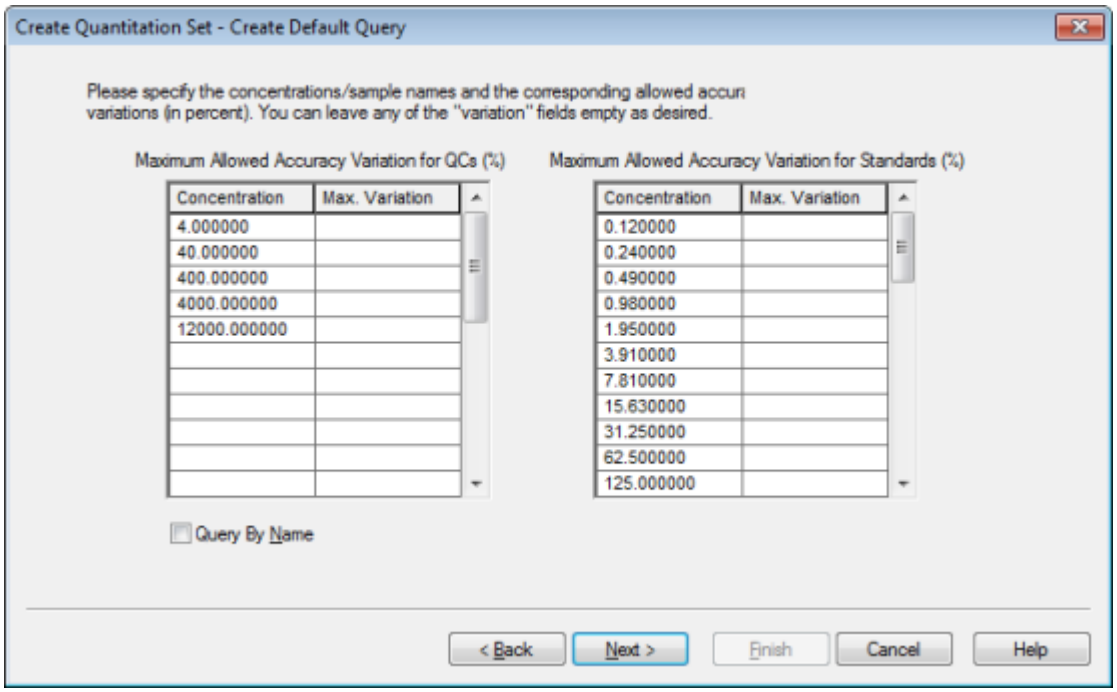
1. Sulla barra di navigazione, alla voce **Quantitate**, fare doppio clic su **Quantitation Wizard** (Procedura guidata quantificazione).
2. Selezionare i campioni nella pagina **Create Quantitation Set - Select Samples** (Crea set quantificazione - Seleziona campioni).
3. Fare clic su **Next**.
4. Nella pagina **Select Settings & Query** (Seleziona impostazioni e query), alla sezione **Default Query** (Query predefinita), selezionare **Create New Standard Query** (Crea nuova query standard).
5. Immettere un nome per la query.

Figura 11-1 Pagina Create Quantitation Set — Select Settings & Query (Crea set quantificazione - Seleziona impostazioni e query)



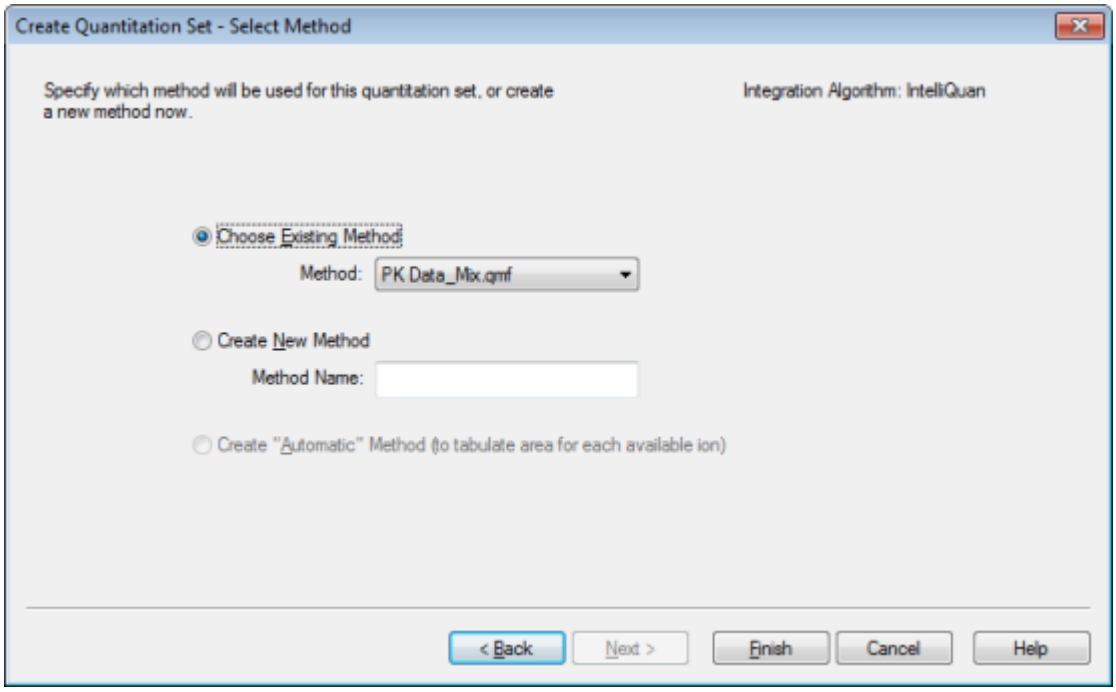
6. Fare clic su **Next**.

Figura 11-2 Pagina Create Quantitation Set — Create Default Query (Crea set quantificazione - Crea query predefinita)



7. Nella tabella **Maximum Allowed Accuracy Variation for QCs (%)** (Variazione accuratezza massima consentita per QC (%)), nella colonna **Max. Variation** (Variazione max.) immettere la percentuale di variazione massima permessa per ogni QC (ad esempio, 5 è ±5%) nella stessa riga della concentrazione corrispondente. Se le concentrazioni non sono state specificate durante l'acquisizione, non appariranno in questa pagina. In questo caso scriverle nella colonna **Concentration** (Concentrazione).
8. Nella tabella **Maximum Allowed Accuracy Variation for Standards (%)** (Variazione accuratezza massima consentita per standard (%)), nella colonna **Max. Variation** (Variazione max.) immettere la percentuale di variazione massima permessa per ogni standard (ad esempio, 10 è ±10%) nella stessa riga della concentrazione corrispondente. Se le concentrazioni non sono state specificate durante l'acquisizione, non appariranno in questa pagina. In questo caso, inserirle nella colonna **Concentration** (Concentrazione).
9. Fare clic su **Next**.

Figura 11-3 Pagina Create Quantitation Set — Select Method (Crea set quantificazione - Seleziona metodo)


Create Quantitation Set - Select Method
Specify which method will be used for this quantitation set, or create a new method now.
Integration Algorithm: IntelliQuan
Choose Existing Method
Method:
PK Data_Mix.qmf
Create New Method
Method Name:
Create "Automatic" Method (to tabulate area for each available ion)
< Back
Next >
Finish
Cancel
Help

10. Selezionare o creare un metodo.
11. Fare clic su **Finish**.

    La query è applicata come una standard query. I risultati della query sono mostrati come voce **Pass** (Riuscito) o **Fail** (Non riuscito) nella colonna **Standard Query Status** (Stato query standard) della **Results Table** (Tabella risultati).

Suggerimento! Per ritornare alla visuale completa, fare clic col destro e poi fare clic su **Full** (Tutto).

Menu tasto destro Results Table

Fare clic con il tasto destro del mouse sulla **Results Table** (Tabella risultati) per accedere alle opzioni mostrate nella *Tabella 11-1*.

Tabella 11-1 Menu tasto destro Results Table

Menu	Funzione
Full	Mostra tutte le colonne.
Summary	Mostra determinate colonne.
Analyte	Mostra un determinato analita.
Analyte Group	Crea un gruppo di analiti.
Sample Type	Mostra i campioni di un determinato tipo o tutti i campioni.
Add Formula Column	Aggiunge una colonna Formula. Si raccomanda all'utente di convalidare i risultati se si utilizza una colonna di formule.
Table Settings	Modifica o seleziona un'impostazione della tabella.
Query	Crea o seleziona una query.
Sort	Crea un ordine per indice.
Metric Plot	Crea un diagramma delle metriche.
Delete Pane	Cancella il riquadro attivo.
Fill Down	Copia gli stessi dati nelle celle selezionate.
Add Custom Column	Aggiunge una colonna personalizzata.
Delete Custom Column	Cancella la colonna personalizzata selezionata.

Verifica e integrazione manuale dei picchi

Utilizzare la verifica dei picchi per passare in rassegna i picchi identificati dal software, per poi ridefinire il picco o i punti di inizio e fine ove richiesto.

Dopo aver identificato gli analiti e gli standard interni che il software dovrà trovare, il software localizzerà i picchi nel campione. Quando il software identifica un picco, mostra i cromatogrammi per ogni analita e ogni standard interno nella pagina **Create Quantitation Method: Define Integration** (Crea metodo di quantificazione: Definisci integrazione) dello **Standard Wizard** (Procedura guidata standard) o nella scheda **Integration** (Integrazione) del **Full Method Editor** (Editor del metodo completo). L'utente può verificare i picchi localizzati o cambiare il metodo di quantificazione per definire i picchi con più precisione. Si consiglia agli utenti di revisionare manualmente tutti i risultati di integrazione.

Verifica dei picchi

Durante la verifica dei picchi, l'utente potrebbe voler vedere un picco nella sua interezza o esaminare i valori della linea di base per determinare se il software ha definito con precisione i punti di inizio e fine del picco. Utilizzare la funzione zoom automatico per fare ambedue le cose.

Per aiutare il software a localizzare un picco, definire i punti di inizio e fine del picco e dello sfondo manualmente. Questi cambiamenti saranno applicati solo a quel determinato picco, a meno che non sia aggiornato il metodo generale.

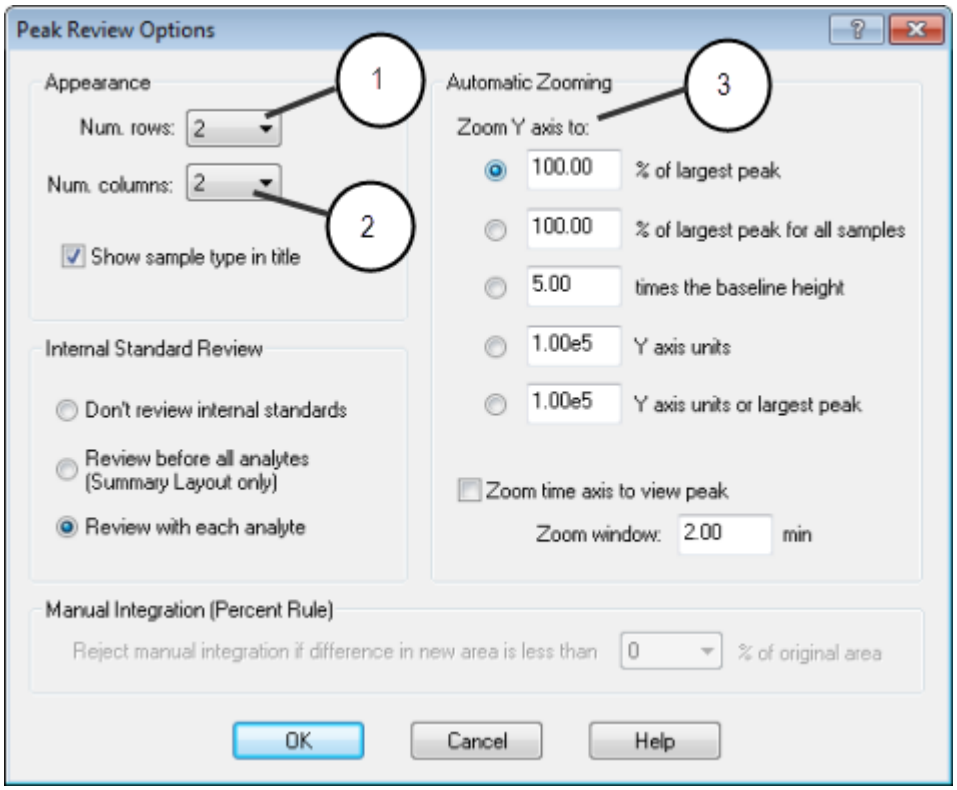
Nota: Si consiglia di convalidare i risultati integrati manualmente.

Suggerimento! Per verificare un singolo picco, fare clic su un punto della curva e poi fare clic su **Show Peak** (Mostra picco). Il software apre la finestra **Peak Review** (Verifica picco) con il picco selezionato.

1. Fare clic con il tasto destro del mouse nella **Results Table** (Tabella risultati) e fare clic su **Analyte** (Analita).
2. Selezionare un campione.
3. Fare clic sul riquadro **Tools > Peak Review > Pane** (Strumenti - Verifica picco).

   Sotto la **Results Table** (Tabella risultati) appaiono solo i picchi in essa elencati.
4. Fare clic col pulsante destro nel riquadro e poi fare clic su **Options** (Opzioni).
5. Nella finestra **Peak Review Options** (Opzioni verifica picco), nella sezione **Appearance** (Aspetto), impostare **Num. rows** (Num. righe) su **1** e **Num. columns** (Num. colonne) su **2**.
6. Nella sezione **Automatic Zooming** (Zoom automatico), fare clic su **Zoom Y axis to: 100% of largest peak** (Zoom asse Y su 100% del picco maggiore) per mostrare l'intero picco.

Figura 11-4 Finestra di dialogo Peak Review Options (Opzioni verifica picco)


Peak Review Options
Appearance
Num. rows: 2
Num. columns: 2
Show sample type in title
1
2
Automatic Zooming
Zoom Y axis to:
3
100.00 % of largest peak
100.00 % of largest peak for all samples
5.00 times the baseline height
1.00e5 Y axis units
1.00e5 Y axis units or largest peak
Zoom time axis to view peak
Zoom window: 2.00 min
Internal Standard Review
Don't review internal standards
Review before all analytes (Summary Layout only)
Review with each analyte
Manual Integration (Percent Rule)
Reject manual integration if difference in new area is less than 0 % of original area
OK
Cancel
Help

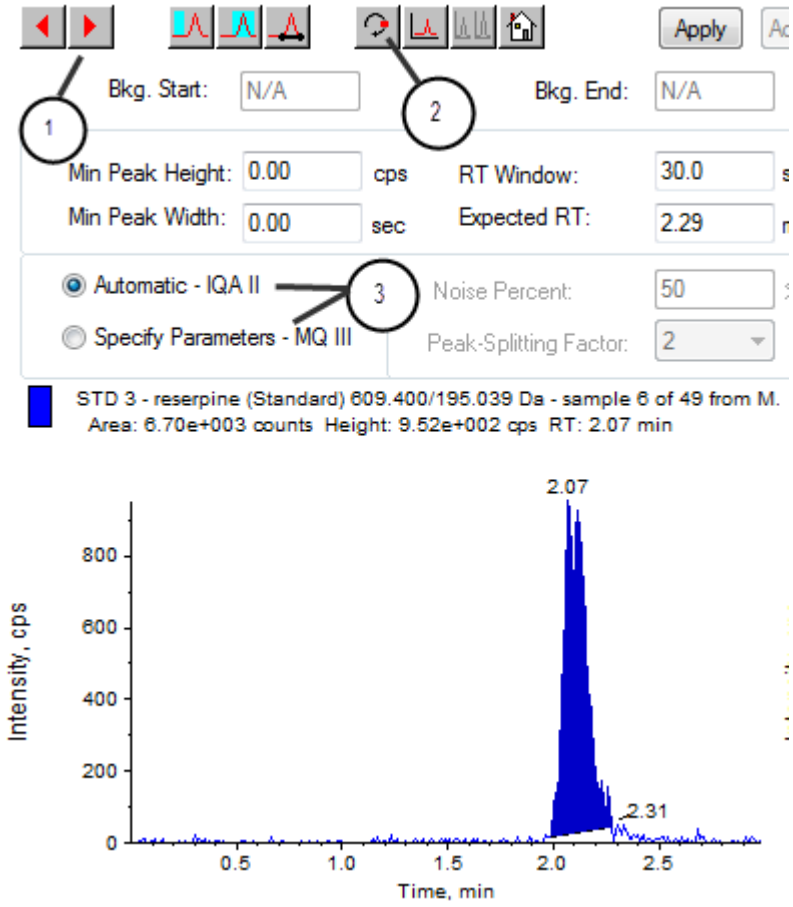
Elemento	Definizione
1	Numero di righe
2	Numero di colonne
3	Impostare **Zoom Y-axis to** (Zoom asse Y) su **100% of largest peak** (100% del picco maggiore) per mostrare l'intero picco

7. Fare clic su **OK**.
8. Per spostarsi tra i picchi, fare clic sulla freccia rivolta a destra. Fare riferimento alla *Figura 11-5 a pagina 114*.
9. Andare alla seconda iniezione dello standard 3.

   In questo esempio, il picco può essere integrato più vicino alla linea di base selezionando l'opzione **Specify Parameters** (Specifica parametri).

Suggerimento! Per spostarsi su un determinato picco nel riquadro **Peak Review**, selezionare la riga corrispondente nella **Results Table**.

Figura 11-5 Riquadro Peak Review



Elemento	Definizione
1	Frecce: fare clic per muoversi tra i picchi.
2	Show or Hide Parameters (Mostra o Nascondi parametri): fare clic per mostrare i parametri di integrazione.
3	Integration parameters (Parametri integrazione): fare clic per modificare i parametri.

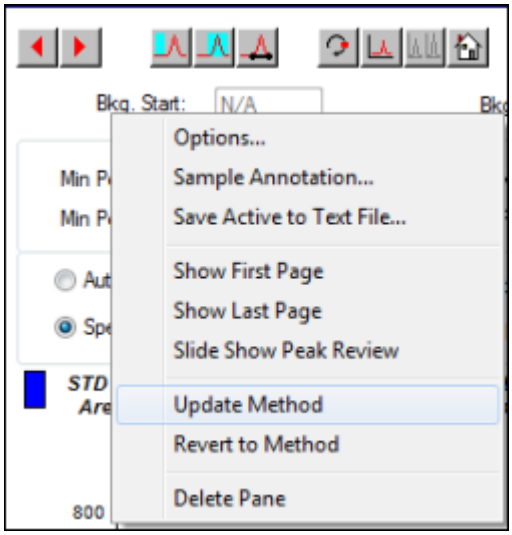
10. Fare clic due volte su **Show or Hide Parameters** (Mostra o Nascondi parametri).
11. Fare clic su **Specify Parameters - MQ III** (Specifica parametri - MQ III).
12. Modificare il valore **Noise Percent** (Percentuale rumore).
13. Fare clic su **Apply** (Applica).

    Il picco è integrato più vicino alla linea di base.
14. Se questa modifica non migliora l'integrazione dei picchi, allora regolare il parametro **Noise Percent** fino a trovare il valore ottimale.

Nota: La funzione **Update Method** (Aggiorna metodo) aggiorna solo i valori dell'algoritmo per quel determinato analita (o standard interno) e non per tutti gli analiti.

15. Per aggiornare gli algoritmi per tutti i picchi, fare clic col destro sul riquadro e poi fare clic su **Update Method** (Aggiorna metodo).

Figura 11-6 Aggiorna metodo



Integrazione manuale dei picchi

L'integrazione manuale dei picchi dovrebbe essere svolta per ultima, per limitare per limitare la variabilità da persona a persona. Integrare i picchi manualmente solo se non sono stati trovati tutti i picchi dopo la regolazione e l'aggiornamento dei parametri dell'algoritmo.

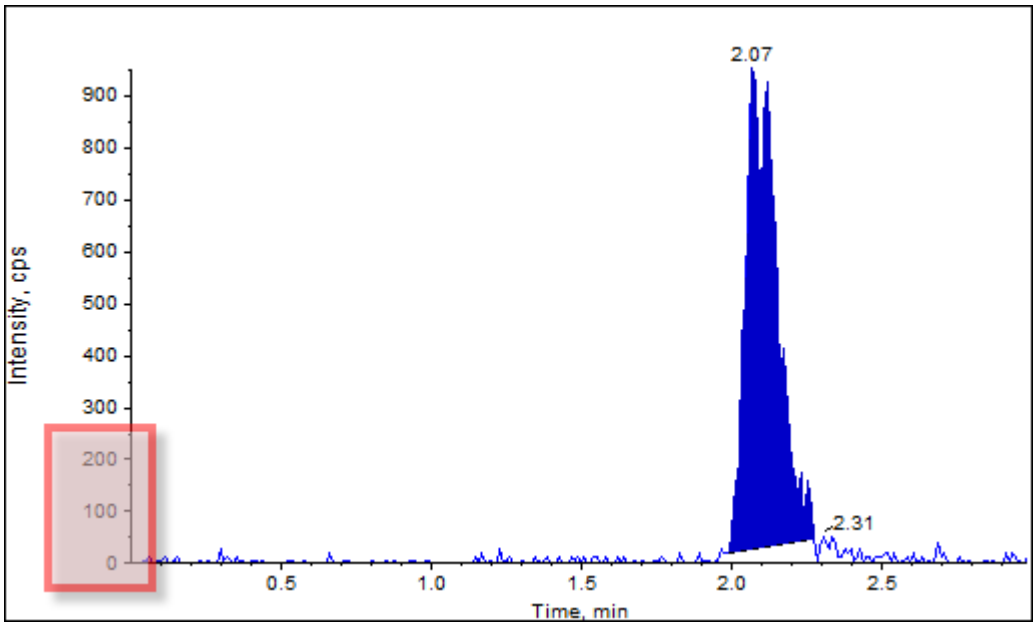
Nota: I picchi che sono stati integrati manualmente, o dove l'algoritmo è stato modificato solo per quel determinato picco, sono identificati nella colonna **Record Modified** (Record modificato) della **Results Table** (Tabella risultati), così come i picchi, il cui parametro dell'algoritmo è stato modificato per un campione, che non vengono applicati all'intero gruppo degli analiti.

1. Nel riquadro **Peak Review**, fare clic su **Manual Integration Mode** (Modalità integrazione manuale).

Figura 11-7 Riquadro Peak Review: integrazione manuale

2. Ingrandisce sull'area più bassa (10%) del picco.

Figura 11-8 Riquadro Peak Review (Verifica picchi): ingrandimento di un picco



3. Spostare il mirino nel punto di inizio del picco, quindi trascinare il mirino fino alla fine del picco da definire.

   Il software oscura l'area delimitata dalla base e dai lati del picco. I parametri del picco sono di colore grigio, dato che non sono più applicabili in quanto il picco è stato tracciato a mano.

4. Compiere una delle seguenti operazioni:

   - Per rendere questa modifica permanente, fare clic su **Accept**.
   - Per abbandonare le modifiche, togliere la spunta alla casella **Manual Integration**.

Nota: Se un picco era corretto nella sua forma originale, fare clic col destro sul picco e poi fare clic su **Revert to Method** (Torna al metodo).

Verifica picco: menu tasto destro

Fare clic col tasto destro del mouse nella finestra o nel riquadro **Peak Review** (Verifica picco) per accedere alle opzioni mostrate nella *Tabella 11-2*.

Tabella 11-2 Menu tasto destro Peak Review (Verifica picchi)

Menu	Funzione
Options	Apre la finestra di dialogo **Peak Review Options** (Opzioni verifica picchi).
Sample Annotation	Apre la finestra di dialogo **Sample Annotation** (Annotazione campione).
Save Active to Text File	Salva il picco selezionato come file di testo.

Tabella 11-2 Menu tasto destro Peak Review (Verifica picchi) (continua)

Menu	Funzione
Show First Page	Passa al primo campione.
Show Last Page	Passa all'ultimo campione.
Slide Show Peak Review	Apre una galleria di immagini sequenziali.
Update Method	Aggiorna l'algoritmo per tutti i picchi.
Revert to Method	Seleziona un picco ridefinito in base al metodo di quantificazione corrente.
Delete Pane	Cancella il riquadro attivo.

Curve di calibrazione

Usare le curve di calibrazione per trovare la concentrazione calcolata dei campioni, inclusi i campioni QC (controllo qualità). I campioni QC o controllo qualità sono aggiunti a un batch per valutare la qualità dei dati e la precisione degli standard nel batch. I campioni QC hanno concentrazioni di analita note, ma sono elaborati come sconosciuti, in modo tale che le concentrazioni misurate possano essere comparate con il valore reale.

La curva di calibrazione è generata tracciando la concentrazione dello standard rispetto alla sua area o la sua altezza. Se si usa uno standard interno, sarà tracciato il rapporto tra la concentrazione di uno standard o quella di uno standard interno rispetto al rapporto tra l'altezza o l'area del picco dello standard rispetto all'altezza o l'area del picco dello standard interno. Il rapporto dell'area o dell'altezza di un campione è successivamente applicato a questa curva per determinare la concentrazione del campione, come mostrato nella **Results Table** (Tabella risultati). Sarà generata un'equazione di regressione per questa curva di calibrazione, secondo la regressione specificata. L'equazione di regressione è usata per calcolare la concentrazione dei campioni sconosciuti.

Visualizzazione delle curve di calibrazione

L'utente può visualizzare la curva di calibrazione e modificare le opzioni di regressione in una **Results Table** (Tabella risultati) aperta. Se vi sono due o più **Results Tables** (Tabelle risultati) aperte, le curve di calibrazione possono essere sovrapposte. Per sovrapporre le curve, accertarsi che il metodo usato per creare le tabelle deve essere identico.

Tracciare una curva di calibrazione per vedere la curva usata per la regressione. Il campo **Calculated Concentration** (Concentrazione calcolata) nella **Results Table** (Tabella risultati) riflette tutti i cambiamenti conseguenti all'adattamento della curva ai punti dello standard.

Nota: Questa opzione è disponibile solo quando nell'area di lavoro vi è una **Results Table** (Tabella risultati) aperta.

1. Aprire una **Results Table** (Tabella risultati).

2. Fare clic su **Tools > Calibration > Pane** (Strumenti - Riquadro calibrazione).

   Si apre il riquadro **Calibration Curve** (Curva di calibrazione) contenente la curva di calibrazione.

3. Se si è in presenza di più di un analita, allora effettuare i seguenti passi per visualizzare la curva di calibrazione per un altro analita:

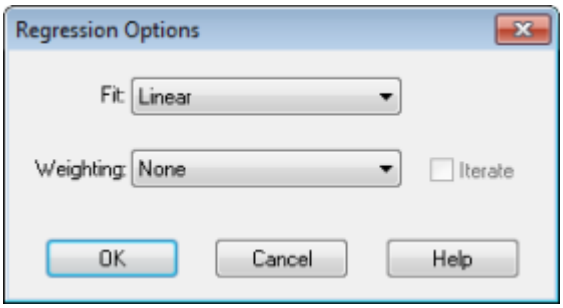
   a. Dall'elenco **Analyte**, selezionare un analita.

   b. Se necessario, dall'elenco successivo selezionare **Area** o **Height** (Altezza).

4. Per modificare le opzioni di regressione per la curva di calibrazione, fare quanto segue:

   a. Fare clic su **Regression**.

   Figura 11-9 Finestra di dialogo Regression Options (Opzioni regressione)

   b. Selezionare **Linear** (Lineare) nell'elenco **Fit** (Adattamento).

   c. Selezionare **1 / x** nell'elenco **Weighting** (Pesatura).

   d. Fare clic su **OK**.

   Si aprirà la curva di calibrazione. L'utente può verificare i singoli picchi della curva o escludere punti dalla curva per produrre una curva migliore.

5. Se necessario, ripetere questi passi per creare una curva più appropriata.

6. Per salvare le modifiche fare clic su **Accept**.

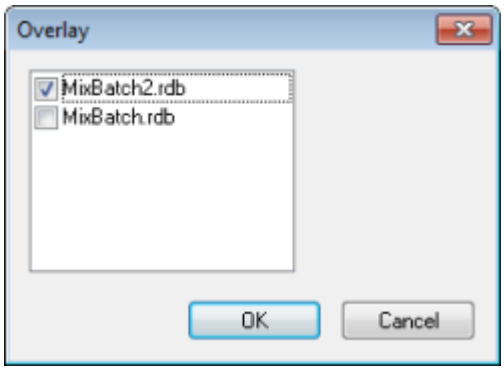
Sovrapposizione delle curve di calibrazione

Suggerimento! Per esaminare più approfonditamente la curva di una tabella, fare clic con il tasto destro del mouse sulla curva, quindi fare clic su **Active Plot** (Tracciato attivo). Selezionare la curva da tracciare in primo piano.

1. Con due o più **Results Tables** aperte, visualizzare una curva di calibrazione per una delle tabelle.

2. Fare clic col destro sulla curva di calibrazione e poi fare clic su **Overlay**.

Figura 11-10 Finestra di dialogo Overlay (Sovrapposizione)



3. Selezionare le tabelle da sovrapporre alla curva corrente.
4. Fare clic su **OK**.

   Il software traccia le curve per ogni tabella selezionata nello stesso grafico.

Curva di calibrazione: menu tasto destro

Fare clic con il tasto destro del mouse sulla finestra **Calibration** (Calibrazione) o nel riquadro della tabella per accedere alle opzioni mostrate nella *Tabella 11-3*.

Tabella 11-3 Menu tasto destro curva di calibrazione

Menu	Funzione
Exclude (Include)	Fare clic col destro sul punto e poi fare clic su **Exclude** (Escludi) per escludere il punto dalla curva. Fare clic col tasto destro del mouse sul punto, quindi fare clic su **Include** (Includi) per includere il punto.
Exclude All Analytes (Include All Analytes)	Fare clic col destro su un punto e poi fare clic su **Exclude All Analytes** (Escludi tutti gli analiti) per escludere tutti gli analiti dalla curva. Fare clic col destro su un punto e poi fare clic su **Include All Analytes** (Includi tutti gli analiti) per includere i punti.
Show Peak	Consente di rivedere un singolo picco.
Overlay	Sovrappone due grafici.
Active Plot	Determina quale diagramma è attivo.
Legend	Mostra la legenda del grafico.
Log Scale X Axis*	Usa una scala logaritmica per l'asse x.
Log Scale Y Axis*	Usa una scala logaritmica per l'asse y.
Delete Pane	Cancella il riquadro attivo.

Tabella 11-3 Menu tasto destro curva di calibrazione (continua)

Menu	Funzione
Home Graph	Riporta il grafico alle sue dimensioni originali
* Una scala logaritmica dispone i punti dei dati in un modo più gestibile, in modo tale che l'effetto di tutti i punti può essere controllato contemporaneamente. Per avere questa visuale, selezionare Log Scale Y Axis versus Log Scale X , e non la scala logaritmica su un solo asse.	

Statistiche del campione

Usare la finestra **Statistics** (Statistiche) per visualizzare le statistiche sui campioni, generalmente per gli standard e i QC (controlli qualità). I dati per ogni batch disponibile nella **Results Table** (Tabella dei risultati) si aprono in forma tabulare nella griglia e viene mostrata una riga di dati per la concentrazione di ciascuno standard o QC.

Visualizzazione delle statistiche per standard e QC

Quando vi è più di una **Results Table** (Tabella risultati) aperta, le informazioni statistiche sugli standard e i QC per i lotti aggiuntivi possono essere ottenuti nella finestra **Statistics** (Statistiche). Ciò facilita il confronto dei risultati tra i lotti e l'identificazione delle tendenze negli standard o nei QC.

1. Aprire una **Results Table** (Tabella risultati).
2. Fare clic su **Tools > Statistics** (Strumenti - Statistiche).
3. Selezionare **Concentration** (Concentrazione) dall'elenco **Statistics Metric** (Metrica statistiche).
4. Selezionare un analita nel campo **Analyte Name** (Nome analita).
5. Selezionare **Standard** nel campo **Sample Type** (Tipo campione).

   Vengono visualizzati i risultati.
6. Osservare le colonne **%CV** e **Accuracy**.

   La colonna **%CV** mostra il coefficiente di varianza tra le misurazioni di ogni singolo parametro, ad esempio l'area. La colonna **Accuracy** (Precisione) mostra la vicinanza del punto tracciato rispetto al valore interpolato.
7. Se necessario, selezionare la casella **Display Low/High values** (Mostra valori bassi/alti) ed esaminare i valori **Low** (Alti), **High** (Bassi) e **Mean** (Medi) per ogni riga della griglia. Ogni riga rappresenta gli standard che hanno gli stessi livelli di concentrazione.
8. Selezionare un altro analita.

   I risultati sono riportati per ogni singolo analita.
9. Per verificare le variazioni di **Quality Control** (Controllo qualità) agli stessi livelli di concentrazione, selezionare **QC** nel campo **Sample Type** (Tipo campione).

Confronto dei risultati tra i batch

Il numero e i nomi degli analiti devono essere identici per i dati da combinare nel riquadro **Statistics** (Statistiche).

1. Aprire una **Results Table** (Tabella risultati).
2. Fare clic su **Tools > Statistics** (Strumenti - Statistiche).
3. Compiere una delle seguenti operazioni:

   - Selezionare **Group By Batch** (Raggruppa per lotto) per disporre i risultati per **Results Table** (Tabella risultati) nell'elenco **Conc. as Rows** (Conc. come righe).
   - Selezionare **Group By Concentration** (Raggruppa per concentrazione) per disporre i risultati in ordine di concentrazione nell'elenco **Conc. as Rows** (Conc. come righe).
   - Selezionare **Group By Concentration (no All)** (Raggruppa per concentrazione (non tutti)) per disporre i risultati in ordine di concentrazione senza una riga che mostri le statistiche di ogni gruppo o lotto nell'elenco **Conc. as Rows** (Conc. come righe).

   Il software ordinerà i risultati. Al termine di ogni lotto o gruppo, appariranno una o due righe aggiuntive: **All** (Tutto) (statistica di tutte le **Results Tables** di quel gruppo) e **Average** (Media) (statistica delle statistiche per quel lotto o gruppo).

Software Reporter 12

Il software Reporter amplia la funzionalità di generazione rapporti nel softwareAnalyst® .

Il software Reporter può essere utilizzato per creare rapporti personalizzati con Microsoft Word e Excel (2007, 2010 o 2013). Il software Reporter presenta le seguenti caratteristiche:

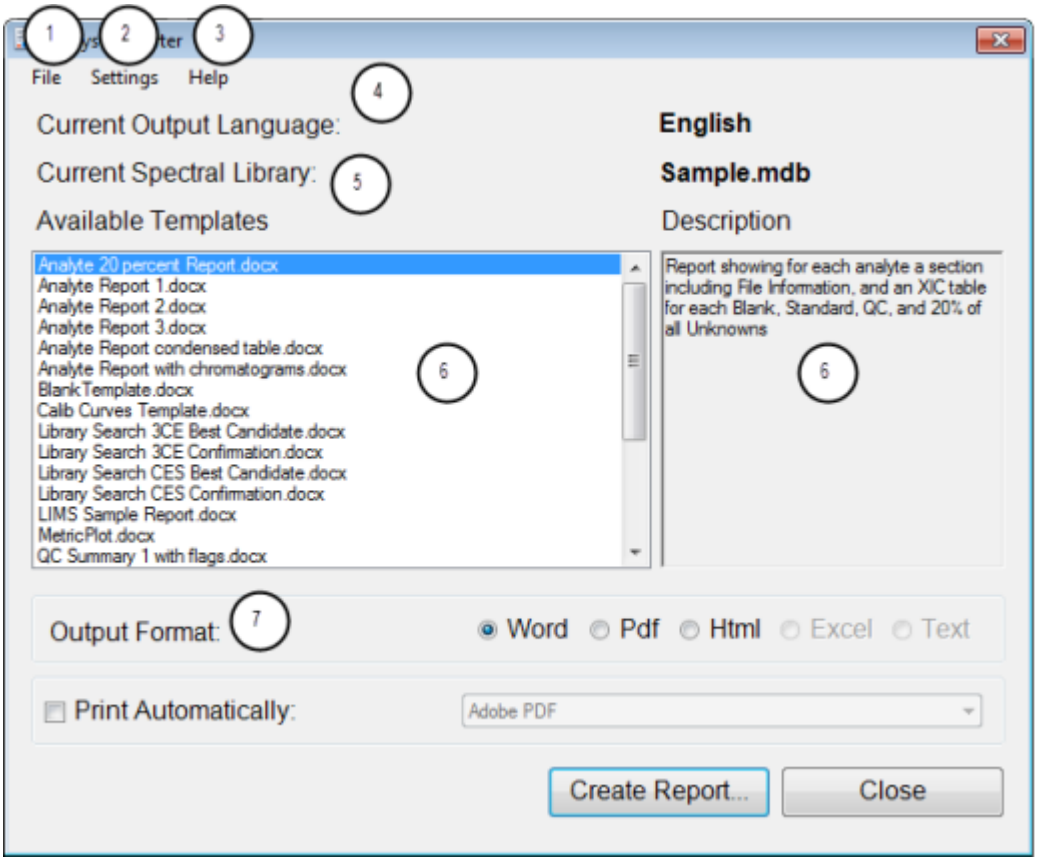
- Fornisce una serie di rapporti che utilizzano i dati disponibili in una **Results Table** (Tabella risultati), nelle finestre di informazioni file e di verifica quantitativa dei picchi.
- Utilizza modelli Microsoft Word per fornire le informazioni di formato necessarie per generare i rapporti. Questi modelli possono essere creati o modificati per fornire formati di rapporti personalizzati. Fare riferimento al menu Help (Guida) per creare o modificare modelli mediante il **Report Template Editor** (Editor modello rapporto).
- Contiene un modello iniziale vuoto che può essere utilizzato nell'ambiente di editing Reporter del software Analyst per progettare modelli di rapporti in grado di soddisfare la maggior parte delle esigenze.
- Stampa automaticamente, esporta in formato Adobe Portable Document Format (pdf) ed invia i risultati tramite e-mail. Questa funzionalità richiede il componente aggiuntivo Save as PDF (Salva come PDF) (Office 2007) installato dal software Analyst.
- Genera rapporti da applicazioni software personalizzate che utilizzano le librerie di programmazione del software Analyst disponibili.

Il software Reporter può essere così utilizzato:

- All'interno del software Analyst per generare manualmente un rapporto o una serie di rapporti.
- Tramite uno script batch per automatizzare la generazione dei rapporti all'interno di un batch. Gli utenti possono generare rapporti per campione, sia durante che dopo l'acquisizione dei lotti.
- Tramite applicazioni che non utilizzano il software Analyst.

Interfaccia utente Reporter

Figura 12-1 Analyst Reporter



Elemento	Opzione	Descrizione
1	**File > Exit** (File > Esci)	Esce dal programma e rilascia tutte le risorse.
2	**Settings > Select Output Language** (Impostazioni > Seleziona lingua di uscita)	Imposta il dizionario della lingua che verrà utilizzata per sostituire i tag di lingua all'interno di un modello di rapporto. I modelli che contengono i tag di lingua all'interno di essi possono essere utilizzati per generare rapporti in qualsiasi lingua. I tag di lingua sono sostituiti con testo ricavato da un tag corrispondente nel file dizionario della lingua selezionata. Questi file dizionario sono contenuti nella cartella: **C:\Program Files\AB SCIEX\AnalystReporter\Resources\Languages**.

Elemento	Opzione	Descrizione
2	**Settings > Select Library** (Impostazioni > Seleziona libreria)	Sfogliare una libreria spettrale. Questa libreria verrà utilizzata per la comparazione e il punteggio degli spettri MS/MS provenienti dalle **Results Tables** (Tabelle dei risultati) contenenti dati ricavati da tipi di scansione MS/MS attivati con acquisizione dipendente da informazione (IDA).
2	**Settings > Select Template Folder** (Impostazioni > Seleziona cartella modelli)	Imposta la cartella dalla quale verranno letti i modelli disponibili. Per tornare alla cartella predefinita, selezionare l'opzione **Default**.
3	**Help > About** (Guida > Info)	Mostra le informazioni sulla versione del software Reporter attualmente installata.
4	Current Output Language (Lingua uscita attuale)	Visualizza il dizionario della lingua attualmente selezionata, utilizzato per sostituire i tag di lingua all'interno di un modello di rapporto. Il dizionario della lingua può essere selezionato tramite **Settings > Select Output Language** (Impostazioni > Seleziona lingua di uscita).
5	Current Spectral Library (Libreria spettrale attuale)	Visualizza la libreria spettrale attualmente selezionata. La libreria spettrale può essere selezionata mediante **Settings > Select Library** (Impostazioni > Seleziona libreria).

Elemento	Opzione	Descrizione
6	Available Templates and Description (Modelli disponibili e descrizione)	Visualizza un elenco di modelli di rapporti disponibili. Selezionando un modello, comparirà sua descrizione. Per cambiare la cartella da cui vengono letti i modelli disponibili, selezionare **Settings > Select Template Folder > Browse** (Impostazioni > Seleziona cartella modelli > Sfoglia).
7	Output Format (Formato di output)	Il software Reporter supporta diversi formati di output. Possono essere selezionati solo formati compatibili con il modello di rapporto selezionato. • Word: viene prodotto un documento Microsoft Word (.docx). Questo documento può essere visualizzato con Microsoft Word 2007 e versioni superiori. • PDF: l'opzione PDF crea un rapporto direttamente in formato PDF. • HTML: Microsoft Word è utilizzato per generare un file HTML. I file immagine associati sono memorizzati in una cartella con lo stesso nome del file HTML. • Excel: viene prodotto un file di solo testo (.csv). I modelli di rapporti che contengono valori separati da virgole possono essere aperti in Microsoft Excel, e ciascun valore verrà visualizzato in una cella separata. Solo i modelli che sono stati specificatamente contrassegnati come testo compatibile possono essere utilizzati per questo formato di output. • Text: viene prodotto un file di solo testo (.txt). Solo i modelli che sono stati specificatamente contrassegnati come testo compatibile possono essere utilizzati per questo formato di uscita. • Print Automatically (Stampa automaticamente): una volta creato, il rapporto viene stampato sulla stampante selezionata. Selezionare da una stampante disponibile.

Generazione di rapporti

Il software Reporter estrae dati numerici dalla **Results Table** (Tabella risultati) e campioni ed informazioni grafiche dal file .wiff.

Selezionare un modello nel campo **Available Template** (Modelli disponibili).

1. Aprire una **Results Table** (Tabella risultati).

2. Alla voce **Companion Software**, fare doppio clic su **Reporter**.
3. Nella finestra di dialogo **Analyst Reporter**, selezionare un modello nel campo **Available Templates** (Modelli disponibili).
4. Fare clic sul formato di output **PDF**.

   L'opzione **Word** è preselezionata e il rapporto viene automaticamente salvato nella cartella **Results** (Risultati). Se questa opzione non è selezionata, il rapporto viene creato e aperto in Word oppure stampato in base alla selezione, ma non viene salvato. Questo permette all'utente di modificare il rapporto in Word prima di salvare l'originale.
5. Selezionare un documento contenente tutti i campioni oppure più documenti con un campione ciascuno.
6. Selezionare la casella **Print Automatically** (Stampa automaticamente) se si desidera che i rapporti vengano automaticamente stampati sulla stampante preselezionata.

   Se non si seleziona una stampante diversa, verrà utilizzata la **Default Printer** (Stampante predefinita) impostata in Windows. Lo strumento Reporter mantiene la stampante selezionata tra le operazioni. Se la stampante è impostata su un driver .pdf, Reporter genera automaticamente versioni in file .pdf dei report creati.
7. Fare clic su **Create Report**.

   La videata mostra vari indicatori di stato mentre lo strumento apre il modello e lo compila con i dati ricavati dalla **Results Table** (Tabella risultati). Alcuni report richiedono pochi secondi per essere generati, mentre altri possono impiegare più tempo. Un gruppo di dati consistente, con molte transizioni MRM o un numero elevato di grafici, può generare report di parecchie centinaia di pagine, che richiedono alcune ore.

Informazioni su Assistenza e Manutenzione 13

Pulire il sistema ed effettuare la manutenzione con regolarità per ottenere prestazioni ottimali. Per informazioni sulla frequenza della sintonizzazione, fare riferimento alla *Tabella 13-1*.

AVVERTENZA! Pericolo di contaminazione da radiazioni, rischio biologico o di esposizione ad agenti chimici tossici: determinare se sia necessaria una decontaminazione prima di effettuare la pulizia o la manutenzione. La decontaminazione dovrebbe essere eseguita prima della pulizia se sono stati usati materiali radioattivi, agenti biologici, o agenti chimici tossici con uno spettrometro di massa.

Programma di pulizia e manutenzione consigliato

La *Tabella 13-1* fornisce un programma consigliato per la pulizia e la manutenzione del sistema. Contattare un tecnico qualificato addetto alla manutenzione (QMP) per ordinare i materiali di consumo. Contattare un rappresentante AB SCIEX per assistenza e supporto nella manutenzione.

Tabella 13-1 Attività di manutenzione

Componente	Frequenza	Attività	Per maggiori informazioni...
Separatore di interfaccia	Quotidianamente	Pulire	Fare riferimento a *Pulizia del separatore di interfaccia a pagina 132*.
Separatore di vuoto (parte frontale)	Quotidianamente	Pulire	Fare riferimento a *Pulizia della parte frontale del separatore di vuoto a pagina 133*.
Separatore di vuoto (parte frontale e posteriore)	Secondo necessità	Pulire	Contattare un addetto QMP o un Responsabile dell'assistenza tecnica AB SCIEX (FSE).
Lenti Q0 e Q1	Secondo necessità	Pulire	Contattare un addetto QMP o FSE locale.
Superfici dello strumento	Secondo necessità	Pulire	Fare riferimento a *Pulizia delle superfici a pagina 128*.
Contenitore per raccolta residui	Secondo necessità	Svuotare	Fare riferimento a *Svuotamento del contenitore di raccolta scarichi della sorgente* .

Tabella 13-1 Attività di manutenzione (continua)

Componente	Frequenza	Attività	Per maggiori informazioni...
Olio pompa per vuoto primaria	Secondo necessità	Controllare e riempire	Contattare un addetto QMP o FSE locale.
Filtro aria strumento	Ogni 6 mesi	Verificare e pulire o sostituire	Contattare un addetto QMP o FSE locale.
Elettrodi TIS e APCI	Secondo necessità	Verificare e pulire o sostituire	Fare riferimento alla *Guida per l'Operatore* della sorgente di ionizzazione.
Ago di scarica corona	Secondo necessità	Sostituire	Fare riferimento alla *Guida per l'Operatore* della sorgente di ionizzazione.

Per le attività "Secondo necessità", seguire queste linee guida:

- Pulire la guida di ionizzazione QJet® e la regione Q0 se la sensibilità del sistema peggiora.

  Suggerimento! Pulire la regione del Q0 regolarmente per ridurre al minimo l'impatto della carica (una notevole perdita di sensibilità degli ioni di interesse in un breve periodo di tempo) sui quadrupoli e sulle lenti. Contattare un addetto QMP o FSE AB SCIEX.

- Pulire le superfici dello spettrometro di massa dopo un eventuale fuoriuscita di sostanze o quando diventano sporche.
- Svuotare il contenitore di raccolta prima che sia pieno.

Pulizia delle superfici

Pulire le superfici esterne dello spettrometro di massa dopo una fuoriuscita di sostanze, o quando diventano sporche.

AVVERTENZA! Rischio biologico, pericolo di esposizione ad agenti chimici tossici: adottare tutte le opportune misure di sicurezza per la pulizia in caso di fuoriuscita di olio per pompa per vuoto. Seguire le procedure di controllo delle fuoriuscite stabilite.

1. Pulire le superfici esterne con un panno morbido inumidito con acqua calda e sapone.
2. Pulire le superfici esterne con un panno morbido inumidito con acqua per rimuovere eventuali residui di sapone.

Pulizia della parte frontale

Pulire la parte frontale dello spettrometro di massa usando il metodo di pulizia ordinaria, allo scopo di:

- Minimizzare i tempi dei fermo macchina non in programma.
- Mantenere una sensibilità ottimale.
- Evitare le operazioni di pulizia più impegnative, in quanto richiedono l'intervento del servizio assistenza.

Quando ha luogo una contaminazione, per prima cosa eseguire una pulizia ordinaria. Pulire fino alla parte frontale del separatore di vuoto (incluso). Se la pulizia ordinaria non risolve i problemi di sensibilità, sarà necessaria una pulizia completa.

Questa sezione fornisce le istruzioni per eseguire una pulizia ordinaria senza rompere il vuoto e una pulizia completa a pressione atmosferica, dopo aver spurgato lo spettrometro di massa.

Nota: Seguire tutte le normative locali in vigore. Per le linee guida sulla salute e la sicurezza, fare riferimento a *Precauzioni chimiche a pagina 10*.

Sintomi della contaminazione

Il sistema potrebbe essere contaminato qualora si osservi uno dei seguenti casi:

- Perdita significativa di sensibilità
- Aumento del rumore di fondo
- Altri picchi che non fanno parte del campione appaiono in metodi di analisi completa o analisi di indagine

Qualora si osservi uno dei seguenti problemi, pulire la parte frontale dello spettrometro di massa.

Materiali richiesti

- Guanti senza polvere (consigliati in neoprene)
- Occhiali di sicurezza
- Camice da laboratorio
- Acqua fresca di alta qualità (pura) (acqua deionizzata ad almeno 18 MΩ [DI] o acqua ultra pura per HPLC). L'acqua aperta da tempo può contenere contaminanti che possono ulteriormente contaminare lo spettrometro di massa.
- Metanolo per MS, alcool isopropilico (2-propanolo) o acetonitrile.
- Soluzione detergente. Usare una tra le seguenti:
  - 100% metanolo
  - 100 % alcool isopropilico
  - Soluzione acqua/acetonitrile 50:50 (preparata al momento)
  - Soluzione acqua/acetonitrile 50:50 con 0,1% di acido acetico (preparata al momento)

- Becher di vetro pulito da 1 L o 500 mL per preparare le soluzioni di pulizia
- Becher da 1 L per raccogliere il solvente usato
- Contenitore per rifiuti organici
- Panni antipelo. Fare riferimento a *Strumenti e materiali disponibili dal produttore a pagina 130*.
- (Opzionali) Tamponi in poliestere

Strumenti e materiali disponibili dal produttore

Descrizione	Codice
Tampone piccolo in poliestere (coesionato termicamente). Disponibili nel kit per la pulizia.	1017396
Panno antipelo (11 cm x 21 cm, 4,3 pollici x 8,3 pollici). Disponibili nel kit per la pulizia.	018027
Bacchetta per la pulizia del Q0 per pulire il gruppo barre del Q0. Disponibili nel kit per la pulizia.	1028234
Pennello per la pulizia della guida ionica QJet® personalizzato (diritto). Disponibili nel kit per la pulizia.	5020894
Confezioni di alconox. Disponibili nel kit per la pulizia.	5020893
Kit di pulizia. Contiene il tampone piccolo in poliestere, i panni antipelo, la bacchetta per la pulizia del Q0, il pennello per la pulizia della guida ionica QJet® diritto e le confezioni di alconox.	5020761

Buone pratiche

AVVERTENZA! Pericolo di Esposizione ad Agenti Chimici Tossici: Seguire tutte le linee guida sulla sicurezza mentre si maneggiano, conservano e smaltiscono prodotti chimici.

AVVERTENZA! Pericolo di contaminazione da radiazioni, rischio biologico o di esposizione ad agenti chimici tossici: determinare se sia necessaria una decontaminazione prima di effettuare la pulizia o la manutenzione. La decontaminazione dovrebbe essere eseguita prima della pulizia se sono stati usati materiali radioattivi, agenti biologici, o agenti chimici tossici con uno spettrometro di massa.

AVVERTENZA! Pericolo ambientale: Non smaltire i componenti del sistema nei residuo comuni. Per lo smaltimento dei componenti, seguire le procedure stabilite.

- Indossare sempre guanti puliti e privi di polvere per le procedure di pulizia.

- Dopo aver pulito i componenti dello spettrometro di massa e prima di rimontarli, indossare un nuovo paio di guanti puliti.
- Non usare strumenti e materiali di pulizia diversi da quelli specificati in questa procedura.
- Preparare le soluzioni detergenti subito prima di iniziare la pulizia, se possibile.
- Preparare e conservare tutte le soluzioni organiche e le soluzioni contenenti materiale organico solo in contenitori di vetro pulitissimi. Non usare mai bottiglie in plastica. I contaminanti possono percolare da queste bottiglie e contaminare ulteriormente lo spettrometro di massa.
- Fare entrare in contatto solo la parte centrale del panno con la superficie dello spettrometro di massa. I bordi potrebbero perdere delle fibre.
- Per evitare la contaminazione incrociata, gettare il panno o il tampone dopo che ha toccato la superficie una volta sola.
- Le parti più grandi dell'interfaccia di vuoto, come il separatore di interfaccia, potrebbero avere bisogno di diverse passate, usando più panni la volta.
- Per evitare di contaminare la soluzione detergente, versare la soluzione sul panno o sul tampone.
- Inumidire il panno o il tampone solo leggermente quando si applicano acqua o detergenti. L'acqua, più spesso dei solventi organici, potrebbe causare il deterioramento del panno, con conseguente rilascio di residui sullo spettrometro di massa.
- Non passare il panno attraverso l'apertura. Pulire attorno all'apertura al fine di evitare che le fibre del panno entrino nello spettrometro di massa.

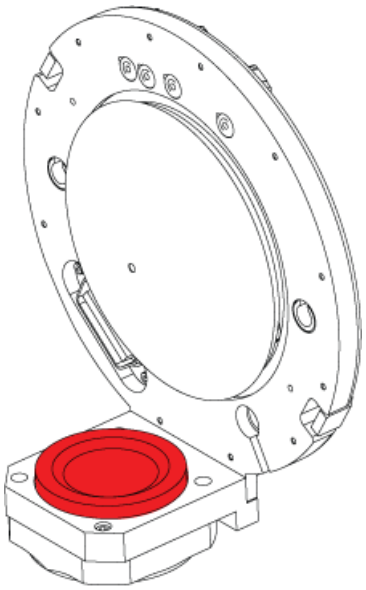
Preparazione dello spettrometro di massa

1. Disattivare il profilo hardware. Fare riferimento alla *Guida per l'Utente del Sistema*.
2. Rimuovere la sorgente di ionizzazione.

Attenzione: Rischio di danni al sistema: non fare cadere nulla nello sfiato della sorgente quando la sorgente di ionizzazione è rimossa.

Quando la sorgente di ionizzazione non è in uso, conservarla, proteggerla da danni e mantenere l'integrità di funzionamento.

Figura 13-1 Sfiato della sorgente sull'interfaccia di vuoto



Pulizia del separatore di interfaccia

Attenzione: Rischio di danni al sistema: Non appoggiare il separatore di interfaccia o di vuoto sulla punta della fenditura. Assicurarsi che il lato conico del separatore di interfaccia sia rivolto verso l'alto.

1. Rimuovere il separatore di interfaccia e sistemarlo su una superficie stabile e pulita con il lato conico rivolto verso l'alto.
2. Pulire i due lati del separatore di interfaccia usando un panno antipelo inumidito con acqua pura. Usare più panni, secondo necessità.
3. Ripetere il passaggio *2* usando la soluzione detergente.
4. Pulire la fenditura con un panno inumidito o un tampone in poliestere piccolo.
5. Attendere fino a che il separatore di interfaccia sia asciutto.
6. Verificare l'eventuale presenza di macchie di solvente o fibre sul separatore di interfaccia, rimuovendole completamente con un panno antipelo pulito e leggermente inumidito.

Nota: Una pellicola o una macchiatura persistente indicano la contaminazione del solvente.

Pulizia della parte frontale del separatore di vuoto

Quando si pulisce il separatore di vuoto standard con il riscaldatore di interfaccia rimuovibile, non rimuovere il riscaldatore di interfaccia. La pulizia della superficie del riscaldatore di interfaccia è adeguata per la pulizia di routine.

Attenzione: Rischio di danni al sistema: non inserire fili o pennelli metallici nella fenditura sul separatore di interfaccia, sul separatore di vuoto su per evitare di danneggiare la fenditura.

Rimessa in funzione dello spettrometro di massa

1. Installare il separatore di vuoto sullo spettrometro di massa.
2. Installare la sorgente di ionizzazione sullo spettrometro di massa.
3. Attivare il profilo hardware.

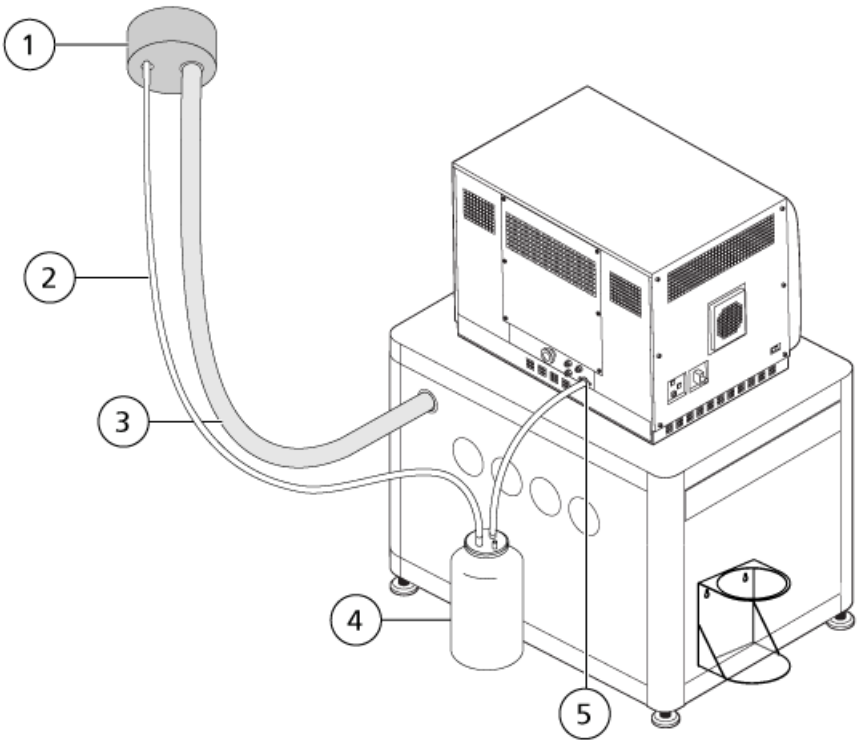
Svuotamento del contenitore di raccolta scarichi della sorgente

Svuotamento del contenitore di raccolta scarichi della sorgente prima che si riempia.

AVVERTENZA! Pericolo di contaminazione da radiazioni, rischio biologico o di esposizione ad agenti chimici tossici: depositare i materiali pericolosi in contenitori opportunamente etichettati. Sussistono rischi di infortuni se le procedure corrette per la gestione e lo smaltimento dei materiali pericolosi non sono rispettate.

1. Rimuovere la sorgente di ionizzazione. Fare riferimento alla *Guida per l'Operatore* della sorgente di ionizzazione.
2. Allentare le fascette che collegano i tubi al tappo del contenitore di raccolta scarichi della sorgente.
3. Scollegare i tubi dal tappo.
4. Se possibile, sollevare il contenitore di raccolta ed estrarlo dal supporto.
5. Rimuovere il tappo del contenitore di raccolta.
6. Svuotare il contenitore di raccolta e quindi smaltire i residuo.
7. Applicare il tappo sul contenitore e inserire il contenitore nel supporto.
8. Collegare i tubi al tappo e fissarli saldamente con le fascette.

Figura 13-2 Contenitore di raccolta scarichi della sorgente



Elemento	Descrizione
1	Collegamento alla bocca di aspirazione
2	Tubo di raccolta scarichi della sorgente: 2,5 cm (1,0") di diametro interno (ID)
3	Tubo di scarico della pompa per vuoto: 3,2 cm (1,25") di diametro interno (ID)
4	Contenitore di raccolta scarichi della sorgente (In questo schema il contenitore di raccolta con tappo è mostrato sulla parte posteriore dello spettrometro di massa, per rendere visibili i punti di collegamento. Il contenitore di raccolta può essere posizionato sul lato dello spettrometro di massa nell'apposito supporto. Verificare che il contenitore sia fissato bene al fine di evitare fuoriuscite.)
5	Collegamento allo spettrometro di massa: 1,6 cm (0,625") di diametro interno (ID)

Stoccaggio e manipolazione

AVVERTENZA! Pericolo ambientale: Non smaltire i componenti del sistema nei residuo comuni. Per lo smaltimento dei componenti, seguire le procedure stabilite.

Se lo spettrometro di massa deve essere stoccato per un lungo periodo o deve essere preparato per la spedizione, contattare un Responsabile dell'Assistenza Tecnica (FSE) AB SCIEX per informazioni sullo smantellamento. Per scollegare l'alimentazione dallo spettrometro di massa, rimuovere il connettore di alimentazione dalla presa di corrente CA.

Nota: Il sistema deve essere trasportato e stoccato ad una temperatura compresa tra –30 °C e +60 °C (-22 °F e 140 °F). Stoccare il sistema in un luogo non oltre i 2000 m sopra il livello del mare.

Risoluzione dei problemi 14

Questo capitolo contiene informazioni generali sulla risoluzione dei problemi di base del sistema. Alcune attività in laboratorio devono essere eseguite solo dall'operaio addetto alla manutenzione qualificato (QMP) formato da AB SCIEX. Per una risoluzione dei problemi avanzata, contattare un Responsabile dell'Assistenza Tecnica (FSE).

Tabella 14-1 Problemi del sistema

Problema	Probabile causa	Azioni da intraprendere
Perdita di sensibilità	Lo strumento o la sorgente di ionizzazione richiedono di essere sintonizzate e ottimizzate.	Fare riferimento a *Istruzioni Operative — Sintonizzazione e calibrazione a pagina 47*.
	Separatore di interfaccia sporco	Fare riferimento a *Pulizia del separatore di interfaccia a pagina 132*.
	Separatore di vuoto sporco	Fare riferimento a *Pulizia della parte frontale del separatore di vuoto a pagina 133*.
	Guida ionica QJet® sporca, depuratore, Q0 o IQ0	Contattare un Responsabile dell'Assistenza Tecnica (FSE) o l'Addetto alla manutenzione qualificato (QMP) locale.
Contaminazione estrema o frequente della guida ionica QJet	Curtain Gas™ (CUR) è troppo bassa.	Verificare l'impostazione per il parametro CUR e aumentarla, se applicabile.
Bassa pressione di vuoto	Livello olio pompa per vuoto basso.	Controllare il livello olio della pompa per vuoto primaria e aggiungere olio, se necessario. Contattare un Responsabile dell'Assistenza Tecnica (FSE) o l'Addetto alla manutenzione qualificato (QMP) locale.

Per la manutenzione, l'assistenza tecnica o l'assistenza commerciale, contattare un Responsabile dell'Assistenza Tecnica (FSE) di o visitare il sito web AB SCIEX all'indirizzo www.absciex.com per ottenerne il contatto.

Istruzioni di funzionamento — Ottimizzazione manuale A

L'utente deve controllare manualmente l'autocampionatore e la valvola di iniezione, poiché questi dispositivi non possono essere controllati tramite il sistema mentre si trova in modalità **Tune and Calibrate** (Sintonizzazione e calibrazione).

Prerequisiti
• Lo spettrometro di massa è sintonizzato e calibrato. • Le condizioni di una separazione LC devono essere note. • Nel profilo hardware si trovano tutte le periferiche richieste, compresa una pompa a siringa, se necessario, e i componenti LC.

Materiali richiesti
Per sintonizzare i parametri dello strumento per un particolare composto, è consigliata la seguente procedura. La miscela dei quattro composti viene usata per illustrare le fasi della procedura. • Fase mobile 1:1 acetonitrile:acqua + 2 mM acetato di ammonio + 0,1% acido formico. • Pompa LC e Autocampionatore • Fiale autocampionatore. • Miscela a quattro composti (50 ng/mL), costituita da reserpina, minoxidil, tolbutamide e rescinnamina. Utilizzare una soluzione al 49,9% di acetonitrile, 50% acqua deionizzata e 0,1% acido formico come diluente. Altri composti possono essere sostituiti a condizione che il loro peso molecolare sia noto e il composto possa essere ionizzato dalla sorgente API (ionizzazione a pressione atmosferica).

Tabella A-1 Composti e pesi molecolari

Composto	***m/z***
Minoxidil	210,2
Tolbutamide	271,1
Reserpina	609,3
Rescinnamina	635,3

Informazioni sull'ottimizzazione manuale dei composti

L'ottimizzazione manuale del composto viene utilizzata per ottimizzare i parametri dipendenti dal composto e dalla sorgente di ionizzazione per l'analita. Quando l'utente esegue l'ottimizzazione manuale di un analita, si crea un metodo di acquisizione MS in modalità **Tune and Calibrate** (Sintonizzazione e calibrazione). A seconda del metodo di introduzione del campione scelto, aggiungere un metodo LC al metodo di acquisizione in modo da poter utilizzare l'infusione o la LC.

L'ottimizzazione eseguita per fornire il segnale più elevato non sempre fornisce i rapporti segnale-rumore più elevati. Il rumore può essere ridimensionato con il segnale per alcuni parametri e deve essere verificato durante l'ottimizzazione se l'obiettivo è ottenere il rapporto segnale-rumore massimo.

Quando si ottimizzano i parametri dipendenti dalla sorgente di ionizzazione, introdurre il campione a velocità di flusso che saranno utilizzate durante l'analisi del campione, utilizzando la FIA (analisi iniezione flusso) o l'infusione Tee come metodo di introduzione del campione. Il gas CAD è l'unico parametro dipendente dal composto che appare sulla scheda **Source/Gas** (Sorgente/gas) e può essere ottimizzato durante l'infusione dell'analita.

Ottimizzare la posizione della sorgente di ionizzazione prima di ottimizzare i parametri dipendenti dalla sorgente di ionizzazione. Fare riferimento alla *Ion Source Operator Guide* (Guida per l'operatore della sorgente di ionizzazione).

Informazioni sui tipi di scansione

Per questo esempio, utilizzare i tipi di scansione **Q1 MS**, **Q1 MI**, **Product Ion** e **MRM**. Il tipo di scansione **Q1 MS** MS è utilizzato per confermare la presenza di composti di interesse. Il tipo di scansione **Q1 MI** MS è utilizzato per ottimizzare MS o le tensioni della camera di pre-collisione. Il tipo di scansione **Product Ion** (Ione prodotto) è utilizzato per determinare gli ioni prodotto di ciascun composto. Il tipo di scansione **MRM** utilizzato per ottimizzare l'energia di collisione (CE) e il potenziale in uscita dalla camera di collisione (CXP) per ciascuno ione prodotto o frammento. I metodi creati in questa esercitazione possono essere utilizzati per analisi quantitative o qualitative.

Ottimizzazione manuale di un analita

Dopo aver creato il metodo di acquisizione, è possibile ottimizzare i parametri dipendenti dal composto mediante la funzione **Edit Ramp** (Modifica rampa) o modificando manualmente i parametri nel **Tune Method Editor** (Editor metodo sintonizzazione). I parametri dipendenti dalla sorgente di ionizzazione possono essere ottimizzati solo regolando manualmente i parametri nel **Tune Method Editor**. A seconda del tipo di scansione utilizzato, possono essere ottimizzati diversi parametri.

Seguire le procedure nell'ordine indicato:

1. *Conferma della presenza di composti a pagina 139*
2. *Ottimizzazione dei parametri specifici per MS a pagina 140*
3. *Determinazione degli ioni prodotto per l'ottimizzazione a pagina 142*

4. *Ottimizzazione del Potenziale in Uscita dalla Camera di Collisione per ogni Ione Prodotto a pagina 143*

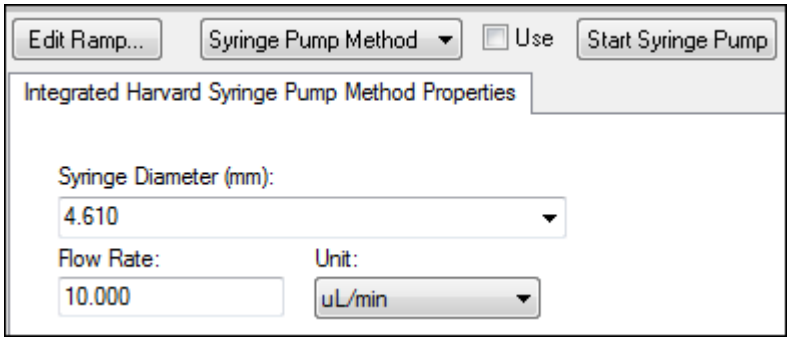
Conferma della presenza di composti

1. Creare un progetto.
2. Attivare il profilo hardware.
3. Infondere il composto in soluzione ad una velocità da 5 µL/min a 10 µL/min.
4. Nella barra di navigazione, in **Tune and Calibrate** (Sintonizzazione e calibrazione), fare doppio clic su **Manual Tuning** (Sintonizzazione manuale).
5. Nella scheda **Syringe Pump Method Properties** (Proprietà metodo pompa a siringa), immettere i parametri come mostrato nella *Tabella A-2*.

Tabella A-2 Scheda Proprietà metodo pompa a siringa

Parametro	Valore
Diametro siringa	Dipendente da siringa: la siringa da 1,0 mL è 4,610 mm
Velocità di flusso	10
Unità	µL/min

Figura A-1 Scheda Proprietà metodo pompa a siringa



6. Fare clic su **Start Syringe Pump** (Avvia pompa a siringa).
7. Fare clic su **MS Method** (Metodo MS) dall'elenco dei metodi.
8. Nella scheda **MS**, immettere i parametri come mostrato nella *Tabella A-3*.

Tabella A-3 Scheda MS

Parametro	Valore
Scan type	Q1 MS (Q1)
Start (Da)	200
Stop (Da)	700
Scan rate (Da/s) (se disponibile)	200
Duration (min)	3

9. Fare clic su **Start**.
10. Attendere fino a quando non si vedono un TIC uniforme sulla sinistra e i picchi sulla destra, quindi fare clic su **Stop**.
11. Selezionare la casella di controllo **MCA**.
12. Digitare **10** nel campo **Cycles** (Cicli) .
13. Fare clic su **Start**.
14. Quando le dieci scansioni sono completate, le masse dei quattro composti vengono visualizzate come ioni.

    Le intensità degli ioni del composto possono mostrare grandi varianze. Per facilitare lo spostamento verso una soluzione con concentrazione inferiore o superiore secondo necessità durante l'ottimizzazione, preparare diversi livelli di concentrazione prima di iniziare l'ottimizzazione.
15. Fare clic con il tasto destro nel riquadro spettrale in basso a destra, quindi fare clic su **Open File**.
16. Trovare i composti di interesse e annotare i valori *m/z* per i picchi più alti. Questi valori devono essere compresi tra 0,1 Da e 0,2 Da del valore *m/z* previsto. Nella procedura successiva, usare i valori *m/z*.

Ottimizzazione dei parametri specifici per MS

Il DP è la differenza tra l'orifizio e la terra. Più alta è la differenza di potenziale, maggiore è la quantità di declustering.

Il parametro DP ha un effetto significativo sul segnale dell'analita. I valori DP tipici sono compresi tra 20 V e 150 V. Se il valore DP è troppo basso, risulteranno un'intensità di ioni inferiore e potenziali interferenze dai cluster. Se il valore DP è troppo alto, può verificarsi la frammentazione dell'analita nella sorgente. In generale, il DP deve essere impostato al valore che fornisce la massima intensità.

Il parametro EP controlla il potenziale in entrata che guida e focalizza gli ioni attraverso la regione Q0 ad alta pressione. È generalmente impostato a 10 V per gli ioni positivi e a –10 V per gli ioni negativi. L'EP ha un effetto minore sull'ottimizzazione del composto, pertanto può essere lasciato a valori predefiniti in quanto non influenza i limiti di rilevamento degli analiti.

1. Tornare a **Tune Method Editor** (Editor metodo sintonizzazione) e modificare il metodo in tipo di scansione **Q1 Multiple Ions (Q1 MI)** .
2. Nella tabella della massa, immettere i parametri come mostrato nella *Tabella A-4*.

Tabella A-4 Parametri della tabella Masse—Q1 Multiple Ions (Q1 MI)

Composto	Massa Q1	Ora
Reserpina	609,3	1
Minoxidil	210,2	1
Tolbutamide	271,1	1
Rescinnamina	635,3	1

Iniziare con la reserpina per un caso semplice. Ripetere l'ottimizzazione manuale per i composti rimanenti.

3. Fare clic su **Edit Ramp** (Modifica rampa).
4. Selezionare **Declustering Potential (DP)** (Potenziale di declustering) nella finestra di dialogo **Ramp Parameter Settings** (Impostazioni parametri rampa).

Nota: Iniziare con il parametro DP, quindi ottimizzare gli altri parametri nell'ordine con cui appaiono nella finestra di dialogo. Se non si rispetta l'ordine, i parametri possono non essere ottimizzati correttamente.

5. Immettere i valori richiesti di **Start**, **Stop** e **Step**. I valori esistenti sono ottimi punti di partenza. Utilizzare la funzione **Edit Ramp** (Modifica rampa) per modificare questi valori ai fini di una maggiore efficienza.
6. Fare clic su **OK**.
7. Fare clic su **Start**.
8. Fare clic con il tasto destro nel riquadro XIC in basso a destra, quindi fare clic su **Open File** per massimizzare la vista XIC.
9. Monitorare gli XIC. Il valore che fornisce il segnale migliore per secondo per lo ione di interesse è il valore ottimale.
10. Annotare il valore ottimale per lo ione di interesse.
11. Spostare il cursore nella tabella della massa, fare clic con il tasto destro e aggiungere il parametro appena ottimizzato. In tal modo si aggiunge una colonna alla tabella.
12. Aggiungere il valore ottimizzato nella riga corrispondente.
13. Ripetere questi passaggi per ciascuna massa nel metodo di acquisizione fino a quando non si ottiene un elenco dei valori ottimali per tutte le masse.
14. Ripetere questi passaggi per ottimizzare gli altri parametri specifici del MS.

Tabella A-5 Parametri specifici per MS

Parametro	Commento
DP	Impostare il DP al valore che fornisce la massima intensità.
EP	Questo parametro si ottimizza raramente perché ha un effetto minore.

Determinazione degli ioni prodotto per l'ottimizzazione

L'energia di collisione (CE) controlla la quantità di energia che gli ioni precursori ricevono quando sono accelerati nella camera di collisione.

Eseguire questa procedura, un composto alla volta, utilizzando i valori ottimizzati specifici per MS, ottenuti in precedenza. Gli ioni prodotto forniscono la massa Q3 delle transizioni MRM.

In questo esempio, viene utilizzato il composto reserpina.

1. In **Tune Method Editor**, chiudere i riquadri XIC.
2. Fare clic su **Product Ion (MS2)** (Ione prodotto (MS2)) nel campo **Scan type** (Tipo di scansione).
3. Selezionare la scheda **Compound** (Composto) e immettere il valore ottimale annotato in precedenza.
4. Nella scheda **MS**, nel campo **Product Of** (Prodotto di), digitare **609,4**. Questo valore è l'assegnazione della massa per reserpina annotato in *Conferma della presenza di composti a pagina 139*.
5. Assicurarsi che la casella di controllo **Center / Width** (Centro / Larghezza) non sia selezionata.
6. Nella tabella della massa, immettere quanto segue:

Tabella A-6 Parametri della tabella della massa (Scansione Ione Prodotto)

Field	Valore
Inizio (Da)	100
Arresto (Da)	650
Tempo (sec)	2

7. Fare clic su **Edit Ramp** (Modifica rampa).
8. Nella finestra di dialogo **Ramp Parameter Settings** (Impostazioni parametri rampa), selezionare **Collision Energy** (Energia di collisione), quindi immettere i valori richiesti per **Start**, **Stop** e **Step**. I valori esistenti sono ottimi punti di partenza. Utilizzare la funzione **Edit Ramp** (Modifica rampa) per modificare questi valori ai fini di una maggiore efficienza.
9. Fare clic su **OK**.
10. Selezionare la casella di controllo **MCA**.
11. Fare clic su **Start**.

12. Fare clic con il tasto destro nel riquadro XIC in basso a destra, quindi fare clic su **Open File**.
13. Prelevare gli ioni prodotto con l'intensità maggiore. Annotare il rapporto *m/z* dello ione prodotto al primo decimale, ad esempio 195,1.

    Il produttore consiglia di ottimizzare due o tre ioni prodotto per ciascun composto. È possibile utilizzare ulteriori transizioni per conferma oppure per evitare di dover riottimizzare un composto in caso di interferenza.

    Nota: Assicurarsi che i picchi più alti selezionati per l'ottimizzazione non rappresentino una perdita comune dallo ione precursore, come l'acqua o l'anidride carbonica. Assicurarsi inoltre che lo ione prodotto non sia troppo basso di massa o potrebbero verificarsi delle interferenze per tale transizione nei campioni reali o nei cluster della fase mobile quando si esegue l'analisi su colonna.

14. Ripetere questa procedura per i composti rimanenti.

Ottimizzazione del Potenziale in Uscita dalla Camera di Collisione per ogni Ione Prodotto

1. In **Tune Method Editor**, chiudere i riquadri XIC.
2. Aprire il metodo salvato in precedenza.
3. Nella tabella della massa, controllare i valori *m/z* di Q1 e Q3 per il composto.
4. Selezionare la scheda **Compound** (Composto) e immettere i valori DP e CE ottimali annotati in precedenza.
5. Fare clic su **Edit Ramp** (Modifica rampa).
6. Nella finestra di dialogo **Ramp Parameter Settings** (Impostazioni parametri rampa), selezionare **Collision Cell Exit Potential (CXP)** (Potenziale di uscita cella di collisione), quindi immettere i valori richiesti per **Start**, **Stop** e **Step**. I valori esistenti sono ottimi punti di partenza. Utilizzare la funzione **Edit Ramp** (Modifica rampa) per modificare questi valori ai fini di una maggiore efficienza.
7. Fare clic su **OK**, quindi su **Start**.
8. Fare clic con il tasto destro nel riquadro XIC in basso a destra, quindi fare clic su **Open File**.
9. Annotare il valore ottimale per lo ione di interesse.

   Il valore che fornisce il segnale migliore è il valore ottimale.
10. Nella tabella della massa, fare clic con il tasto destro e selezionare il parametro appena ottimizzato. In tal modo si aggiunge una colonna alla tabella.
11. Ripetere se sono stati monitorati altri ioni prodotto.
12. Aggiungere i valori ottimizzati nella riga corrispondente.
13. Salvare il metodo.
14. Ripetere per gli altri composti se ottimizzati in precedenza.

Ottimizzazione Manuale della sorgente di ionizzazione e dei Parametri del Gas

Le impostazioni per la sorgente di ionizzazione e per il gas devono essere fissate correttamente per fare in modo che lo spettrometro di massa rimanga pulito e che i composti di interesse siano stati messi in modo ottimale nella fase gassosa come ioni.

Le impostazioni per la sorgente di ionizzazione e per il gas devono essere regolate quando le condizioni LC cambiano significativamente.

Per ottimizzare i parametri della sorgente di ionizzazione e del gas, impostare una pompa a siringa con i composti di interesse e collegare la linea con un raccordo a T al dispositivo LC. Il controllo della pompa può essere eseguito manualmente o mediante il software.

Un altro modo per ottimizzare manualmente le impostazioni per la sorgente di ionizzazione e per il gas è quello di usare l'autocampionatore per iniettare manualmente il composto di interesse, mentre si variano manualmente i parametri in sintonizzazione manuale per trovare le impostazioni ottimali.

Preparazione della sorgente di ionizzazione

1. Impostare il micrometro orizzontale a 5 mm.
2. Impostare il micrometro verticale sulla sorgente di ionizzazione per la portata.

   Usare i parametri in *Tabella A-7*. Fare riferimento alla *Guida per l'operatore della sorgente di ionizzazione*.

   Tabella A-7 Parametri Verticali Sorgente di ionizzazione Turbo V

Velocità di flusso	Parametri verticali iniziali
da 1µL/min a 20µL/min	10 mm
da 20µL/min a 250µL/min	5 mm
da 250µL/min a 500µL/min	2 mm
500 + µL/min	0 mm

   A seconda di come viene eseguita l'ottimizzazione, può essere necessario configurare un profilo hardware con le pompe LC.

Ottimizzazione dei parametri della sorgente di ionizzazione

I parametri della sorgente di ionizzazione sono ottimizzati per ottenere il migliore rapporto segnale/rumore per il composto di interesse. L'erogazione dell'interfaccia **Curtain Gas** ™ è ottimizzata sull'impostazione più alta senza perdere sensibilità. Fare riferimento alla *Guida per l'Operatore - Sorgente di Ionizzazione*.

Utilizzare la seguente procedura per ottimizzare il parametro dell'interfaccia **Curtain Gas**. La funzione principale del parametro dell'interfaccia **Curtain Gas** è quella di impedire la contaminazione delle ottiche ioniche. Il parametro dell'interfaccia del **Curtain Gas** deve essere sempre mantenuto al livello più alto

possibile senza perdere la sensibilità. Il valore dipende dal tipo di spettrometro di massa e di sorgente di ionizzazione.

Non impostare il parametro sotto il valore iniziale.

1. Nella barra di navigazione, in **Tune and Calibrate** (Sintonizzazione e calibrazione), fare doppio clic su **Manual Tuning** (Sintonizzazione manuale).
2. Fare clic su **File > Open** (File > Apri).
3. Nell'elenco **Files**, fare clic sul metodo di acquisizione utilizzato per ottimizzare il parametro del composto e quindi fare clic su **OK**.

   Il metodo si apre nel **Tune Method Editor** (Editor del metodo di sintonizzazione).
4. Fare clic sulla scheda **Source/Gas** (Sorgente/Gas).
5. Utilizzando la guida per la sorgente di ionizzazione e il flusso di gas, impostare tutti i parametri della sorgente di ionizzazione e gas in modo che siano appropriati per la velocità di flusso.
6. Impostare il tempo di esecuzione affinché sia sufficientemente lungo per poter regolare molti parametri. Un buon tempo di partenza è 15 minuti.
7. Fare clic su **Start**.

   I dati sono mostrati nei riquadri sotto il **Tune Method Editor** (Editor del metodo di sintonizzazione).
8. Annotare il segnale del picco di interesse.
9. Nel campo **Curtain Gas (CUR)** , aumentare il valore per cinque.
10. Continuare ad aumentare il valore dell'interfaccia **Curtain Gas** fino a quando non si trova il valore più alto senza perdere sensibilità. Come con la maggior parte dei parametri **Source/Gas** (Sorgente/Gas), se due valori forniscono lo stesso risultato, occorre utilizzare il valore più alto.
11. Ripetere questa procedura per gli altri parametri **Source/Gas** (Sorgente/Gas). Quando si esegue l'ottimizzazione per questi parametri, cercare il valore che fornisce il valore segnale/rumore più alto.

Elenco componenti della spedizione

B

Componenti della Spedizione

Tabella B-1 Spettrometro di massa

Codice	Descrizione	Quantità
5014688	Pompa per vuoto primaria SV 28	1
1026571	Cavo Ethernet, cross-over CAT 5, 10 piedi	1
014461	Cavo, stampato, INST/NEMA 6	1
1002277	Cavo I/O ausiliario (opzionale)	1
5021072	Contenitore raccolta residuo di scarico da 4 l	1
5021296	Tappo riempimento/sfiato	1
5021495	Tubo di scarico, ondulato, 1 pollice diametro interno x 1 pollice diametro esterno, 152,4 cm	1
5021493	Tubo di scarico, ondulato, 0,625 pollici diametro interno x 1 pollice diametro esterno, 152,4 cm	1
5021142	Morsetto in acciaio inox, diametro da 1,27 cm a 2,3 cm	1
5021232	Morsetto in acciaio inox, diametro da 1,75 cm a 3,18 cm	1
5029690	Tubo di Teflon, 0,25 pollici diametro interno x 0,125 pollici diametro esterno, 3048 cm	1
1004318	Raccordo tubo a 3 vie, 6,4 mm	1
019176	Dado esagonale, 0,25 pollici acciaio inox	5
019178	Ghiera e tubo, 0,25 pollici diametro esterno	5

Tabella B-2 Computer

Codice	Descrizione	Quantità
5031431	Dell OptiPlex 9010, Windows 7 (32 bit)	1
5025243	Disco di ripristino	1
5029882	Monitor LCD 23" Wide Ultrasharp Dell	1

Parametri per strumenti AB SCIEX Triple Quad 3500

C

La tabella seguente contiene i parametri generici per lo strumento AB SCIEX Triple Quad 3500. Il primo numero sotto ogni tipo di scansione è il valore preimpostato. L'intervallo di numeri è la gamma accessibile per ciascun parametro.

Tabella C-1 Parametri di sistema per tipi di scansione a triplo quadrupolo

ID Accesso	Modalità ioni positivi			Modalità ioni negativi		
	Q1	**Q3**	**MS/MS**	**Q1**	**Q3**	**MS/MS**
CUR[(1)(2)]	10 da 10 a 55	10 da 10 a 55	10 da 10 a 55	10 da 10 a 55	10 da 10 a 55	10 da 10 a 55
CAD	0 Fisso	5 Fisso	9 da 0 a 12	0 Fisso	5 Fisso	9 da 0 a 12
IS[(1)(2)]	5.500 da 0 a 5500	5.500 da 0 a 5500	5.500 da 0 a 5500	-4.500 da -4500 a 0	-4.500 da -4500 a 0	-4.500 da -4500 a 0
NC[(3)]	3 da 0 a 5	3 da 0 a 5	3 da 0 a 5	–3 da -5 a 0	–3 da -5 a 0	–3 da -5 a 0
TEM[(2)(3)]	0 da 0 a 750	0 da 0 a 750	0 da 0 a 750	0 da 0 a 750	0 da 0 a 750	0 da 0 a 750
DP	130 da 0 a 300	130 da 0 a 300	120 da 0 a 300	–60 da -300 a 0	–60 da -300 a 0	–150 da -300 a 0
EP	10 da 2 a 15	10 da 2 a 15	10 da 2 a 15	–10 da -15 a -2	–10 da -15 a -2	–10 da -15 a -2
CEM	2.000 da 0 a 3300	2.000 da 0 a 3300	2.000 da 0 a 3300	2.000 da 0 a 3300	2.000 da 0 a 3300	2.000 da 0 a 3300
GS1	15 da 0 a 90	15 da 0 a 90	15 da 0 a 90	15 da 0 a 90	15 da 0 a 90	15 da 0 a 90
GS2	0 da 0 a 90	0 da 0 a 90	0 da 0 a 90	0 da 0 a 90	0 da 0 a 90	0 da 0 a 90

Tabella C-1 Parametri di sistema per tipi di scansione a triplo quadrupolo (continua)

ID Accesso	Modalità ioni positivi			Modalità ioni negativi		
IQ1 (IQ1 = Q0 + offset)	Q0 + (–0,5)	Q0 + (–0,5)	Q0 + (–0,5)	Q0 + (0,5)	Q0 + (0,5)	Q0 + (0,5)
ST (ST = Q0 + offset)	Q0 + (–8) da –12 a –5	Q0 + (–8) da –12 a –5	Q0 + (–8) da –12 a –5	Q0 + 8 da 12 a 5	Q0 + 8 da 12 a 5	Q0 + 8 da 12 a 5
IE1 (IE1 = Q0 – RO1)	0,9 da 0 a 3	n/a	0,9 da 0 a 3	–1 –da 3 a 0	n/a	–1 da -5 a 0
CE (CE = Q0 - RO2)	n/a	n/a	53 da 5 a 180	n/a	n/a	–40 da –180 a –5
CXP (CXP = RO2 - ST3)	n/a	9 da 0 a 55	27 da 0 a 55	n/a	–17 –da 55 a 0	–12 –da 55 a 0
IE3	n/a	2 da 0 a 5	1.5 da 0 a 5	n/a	–2,500 da -5 a 0	–1,2 da -5 a 0
(1) Sorgente di ionizzazione Turbo V™ (2) Sonda TurboIonSpray® (3) Sonda APCI						

Soluzioni e ioni per la calibrazione

D

Tabella D-1 Frequenza di sintonizzazione

Calibrazione			Ottimizzazione risoluzione	
Tipo scansione	**Frequenza**	**Manuale/Auto**	**Frequenza**	**Manuale/Auto**
Q1 e Q3	da 3 a 6 mesi	Entrambi	da 3 a 6 mesi	Entrambi

Tabella D-2 Soluzioni consigliate per la sintonizzazione del sistema AB SCIEX Triple Quad 3500 LC/MS/MS

Sistema	Positiva	Negativa
AB SCIEX Triple Quad™ 3500 LC/MS/MS	PPG 1×10^{-5} M PPG (1:10)	NEG PPG 3×10^{-4}

Tabella D-3 Scansioni ioniche positive PPG Q1 e Q3

Masse							
59,0	175,1	500,3	616,5	906,7	1.254,9	1.545,1	1952,4

Tabella D-4 Scansioni ioniche negative PPG Q1 e Q3

Masse							
45,0	411,2	585,4	933,6	1.223,8	1.572,1	1.863,3	1979,3

Icone della barra degli strumenti E

Per icone aggiuntive della barra degli strumenti, fare riferimento alla *Guida avanzata per l'utente*.

Tabella E-1 Icone della barra degli strumenti

Icona	Nome	Descrizione
	New Subproject	Crea un sottoprogetto. I **sottoprogetti** possono essere creati in un secondo momento dell'elaborazione, a condizione che il progetto sia stato creato in origine con i sottoprogetti.
	Copy Subproject	Copia una cartella di sottoprogetto. Si può copiare un sottoprogetto solo da un altro progetto che ha sottoprogetti già salvati. Se la stessa cartella esiste sia al livello del progetto, sia al livello del sottoprogetto, il software userà la cartella al livello del progetto.

Tabella E-2 Icone Acquisition Method Editor

Icona	Nome	Descrizione
	Mass Spec	Mostra la scheda **MS** nell'editor **Acquisition Method** (Metodo di acquisizione).
	Period	Fare clic con il tasto destro del mouse per aggiungere un esperimento, aggiungere un **IDA Criteria Level** (Livello criteri IDA) o cancellare il periodo.
	Autosampler	Apre la scheda **Autosampler Properties** (Proprietà autocampionatore).
	Syringe Pump	Apre la scheda **Syringe Pump Properties** (Proprietà pompa siringa).
	Column Oven	Apre la scheda **Column Oven Properties** (Proprietà forno colonna).
	Valve	Apre la scheda **Valve Properties** (Proprietà valvola).
	DAD	Apre **DAD Method Editor** (Editor metodo DAD). Fare riferimento a *Generazione di dati DAD a pagina 97*.
	ADC	Apre la scheda **ADC Properties** (Proprietà ADC). Fare riferimento a *Visualizzazione dei dati ADC a pagina 90*.

Tabella E-3 Icone Modalità Acquire

Icona	Nome	Descrizione
	View Queue	Mostra la coda dei campioni.
	Instrument Queue	Visualizza il terminale di uno strumento remoto.
	Status for Remote Instrument	Visualizza lo stato di uno strumento remoto.
	Start Sample	Avvia il campione in coda.
	Stop Sample	Ferma il campione in coda.
	Abort Sample	Arresta l'acquisizione di un determinato campione durante l'esecuzione.
	Stop Queue	Ferma la coda prima che abbia terminato di elaborare tutti i campioni.
	Pause Sample Now	Inserisce una pausa nella coda.
	Insert Pause before Selected Sample(s)	Inserisce una pausa prima del campione specificato.
	Continue Sample	Continua ad acquisire il campione.
	Next Period	Avvia un nuovo periodo.
	Extend Period	Estende il periodo corrente.
	Next Sample	Arresta l'acquisizione in corso del campione e avvia l'acquisizione del campione successivo.
	Equilibrate	Seleziona il metodo da usare per equilibrare i dispositivi. Questo metodo dovrebbe essere lo stesso metodo usato per il primo campione in coda.
	Standby	Mette lo strumento in modalità **Standby**.
	Ready	Mette lo strumento in modalità **Ready**.
	Reserve Instrument for Tuning	Prepara lo spettrometro di massa per la sintonizzazione e la calibrazione.

Tabella E-3 Icone Modalità Acquire (continua)

Icona	Nome	Descrizione
	IDA Method Wizard	Avvia **IDA Method Wizard** (Procedura guidata metodo IDA).
	Purge Modifier	Avvia lo spurgo modificatore dalla pompa del modificatore.

Tabella E-4 Icone modalità di sintonizzazione e calibrazione

Icona	Nome	Descrizione
	Calibrate from spectrum	Apre la finestra di dialogo **Mass Calibration Option** (Opzione calibrazione massa) e utilizza lo spettro attivo per calibrare lo spettrometro di massa.
	Manual Tune	Apre il **Manual Tune Editor** (Editor sintonizzazione manuale).
	Compound Optimization	Ottimizza il composto usando l'infusione di FIA.
	Instrument Optimization	Verifica le prestazioni dello strumento, regola la calibrazione di massa o le impostazioni dello spettrometro di massa.
	View Queue	Mostra la coda dei campioni.
	Instrument Queue	Visualizza uno strumento remoto.
	Status for Remote Instrument	Visualizza lo stato di uno strumento remoto.
	Reserve Instrument for Tuning	Prepara lo strumento per la sintonizzazione e la calibrazione.
	IDA Method Wizard	Avvia **IDA Method Wizard** (Procedura guidata metodo IDA).

Tabella E-5 Guida rapida di riferimento: cromatogrammi e spettro

Icona	Nome	Descrizione
	Open Data File	Apre i file.
	Show Next Sample	Passa al campione successivo.

Tabella E-5 Guida rapida di riferimento: cromatogrammi e spettro (continua)

Icona	Nome	Descrizione
	Show Previous Sample	Passa al campione precedente.
	GoTo Sample	Apre la finestra di dialogo **Select Sample** (Seleziona campione).
	List Data	Visualizza i dati nelle tabelle.
	Show TIC	Genera un TIC da uno spettro.
	Extract Using Dialog	Estrae gli ioni secondo la massa selezionata.
	Show Base Peak Chromatogram	Genera un BPC.
	Show Spectrum	Genera uno spettro da un TIC.
	Copy Graph to new Window	Copia il grafico attivo in una nuova finestra.
	Baseline Subtract	Apre la finestra di dialogo **Baseline Subtract** (Sottrazione linea di base).
	Threshold	Regola la soglia.
	Noise Filter	Mostra la finestra di dialogo **Noise Filter Options** (Opzioni filtro rumore), che può essere usato per definire la larghezza minima di un picco. I segnali al di sotto di questa larghezza minima saranno considerati come rumore.
	Show ADC	Mostra i dati ADC.
	Show File Info	Mostra le condizioni dell'esperimento usate per raccogliere i dati.
	Add arrows	Aggiunge delle frecce all'asse x del grafico attivo.
	Remove all arrows	Rimuove le frecce dall'asse x del grafico attivo.
	Offset Graph	Compensa le piccole differenze nel tempo in cui i dati ADC e i dati dello spettrometro di massa sono stati registrati. Questo è utile quando si sovrappongono i grafici per il confronto.
	Force Peak Labels	Etichetta tutti i picchi.
	Expand Selection By	Imposta il fattore di espansione di una porzione di un grafico per la visualizzazione in dettaglio.

Tabella E-5 Guida rapida di riferimento: cromatogrammi e spettro (continua)

Icona	Nome	Descrizione
	Clear ranges	Riporta la selezione espansa alla vista normale.
	Set Selection	Definisce i punti iniziali e finali di una selezione. Questa funzione offre la selezione più accurata possibile selezionando la regione con il cursore.
	Normalize To Max	Scala un grafico alla dimensione massima, affinché il picco più intenso venga dimensionato su scala integrale, che sia visibile o meno.
	Show History	Mostra un riepilogo delle operazioni di elaborazione dei dati eseguite per un determinato file, come smussamento, sottrazione, calibrazione e filtraggio del rumore.
	Open Compound Database	Apre il database dei composti.
	Set Threshold	Regola la soglia.
	Show Contour Plot	Mostra i dati selezionati in forma di spettro o di XIC. In aggiunta, per i dati acquisiti da un DAD, un contour plot (diagramma a contorni) può mostrare i dati raccolti in forma di spettro DAD o di XWC.
	Show DAD TWC	Genera un TWC dello spettro DAD.
	Show DAD Spectrum	Genera uno spettro DAD.
	Extract Wavelength	Estrae fino a tre range di lunghezza d'onda da uno spettro DAD per generare lo XWC.

Tabella E-6 Scheda Integration e icone di Quantitation Wizard

Icona	Nome	Descrizione
	Set parameters from Background Region	Utilizza il picco selezionato.
	Select Peak	Utilizza lo sfondo selezionato.
	Modalità di integrazione manuale	Integrazione manuale dei picchi.
	Mostra o nasconde i parametri	Rende visibili o invisibili i parametri di rilevamento dei picchi.

Tabella E-6 Scheda Integration e icone di Quantitation Wizard (continua)

Icona	Nome	Descrizione
	Show Active Graph	Mostra solo il cromatogramma dell'analita.
	Show Both Analyte and IS	Mostra l'analita e cromatogramma ad esso associato (disponibile solo quando esiste uno standard interno associato)
	Usa visualizzazione predefinita per grafico	Ritorna alla vista preimpostata (tutti i dati visibili, ad esempio, se l'utente ha usato lo zoom su un cromatogramma).

Tabella E-7 Icone della Results Table

Icona	Nome	Descrizione
	Sort Ascending by Selection	Ordina la colonna selezionata per valori ascendenti.
	Sort Descending by selection	Ordinare la colonna selezionata per valori discendenti.
	Lock Or Unlock Column	Blocca o sblocca la colonna selezionata. Una colonna bloccata non può essere spostata.
	Metric Plot by Selection	Crea un diagramma delle metriche dalla colonna selezionata.
	Show all Samples	Mostra tutti i campioni nella **Results Table** (Tabella risultati).
	Elimina colonna di formule	Cancella le colonne Formula.
	Report Generator	Apre il software Reporter.

Tabella E-8 Riferimento rapido icone: modalità Quantitate

Icona	Nome	Descrizione
	Add/Remove Samples	Aggiunge o rimuove campioni dalla **Results Table** (Tabella risultati).
	Export as Text	Salva la **Results Table** (Tabella risultati) come file di testo.
	Modify Method	Apre un file .wiff.

Tabella E-8 Riferimento rapido icone: modalità Quantitate (continua)

Icona	Nome	Descrizione
	Peak Review - Pane	Apre i picchi in un riquadro.
	Peak Review - Window	Apre i picchi in una finestra.
	Calibration - Pane	Apre la curva di calibrazione in un riquadro.
	Calibration - Window	Apre la curva di calibrazione in una finestra.
	Show First Peak	Mostra il primo picco nel riquadro o nella finestra.
	Show Last Peak	Mostra l'ultimo picco nel riquadro o nella finestra.
	Show Audit Trail	Mostra l'audit trail per la **Results Table** (Tabella risultati).
	Clear Audit Trail	Cancella l'audit trail per la **Results Table** (Tabella risultati).
	Statistics	Apre la finestra **Statistics**.
	Report Generator	Apre il software **Reporter**.

Cronologia delle revisioni

Revisione	Motivazione della modifica	Data
RUO-IDV-05-1418-A	Prima versione del documento.	Giugno 2014

Indice

A

acidi, elenco degli 11
acqua, e pulizia del sistema 131
acquisizione dei dati spettrali, descrizione 68
acquisizione, arresto 81
affiancamento riquadri 102
aggiunta
  campioni ai batch 74
  dispositivi 41
  esperimenti 66
  periodi 66
  record 100
ambiente domestico e interferenza radio 13
analisi mediante iniezione in flusso
  cartella Acquisition Methods (Metodi di acquisizione) 51
  descrizione 51
  ottimizzazione automatica 57
analisi quantitativa, descrizione 104
apertura, file di dati 87
applicazione
  metodi di quantificazione 77
  modifica parametri, verifica picchi 112
arresto, campioni 81
asse x, ingrandimento 102
asse y, ingrandimento 102
attivazione
  profili hardware 40
  risoluzione dei problemi relativi all'attivazione del profilo hardware 43
avvio
  acquisizione 78
  sistema 27

B

basi, elenco delle 11
batch
  aggiunta di set e campioni 74
  creazione da file di testo 81
  descrizione 73
  modifica dei valori colonna 77
Batch Editor (Editor batch)
  menu pulsante destro 82
  metodi di acquisizione, modifica 77
  suggerimenti 77
Batch Editor (Editor lotti)
  dettagli quantificazione, definizione 80
blocco riquadri 102
BPC cromatogrammi picco base
Build Quantitation Method
  creazione 105

C

campioni
  arresto 81
  invio 77
  modifica ordine 78
  navigare tra i campioni 87
  file di dati
campo calculated concentration (concentrazione calcolata) 117
cartella Acquisitions Methods (Metodi di acquisizione)
  analisi mediante iniezione in flusso 51
cartella API Instrument (Strumento API)
  contenuto 45
Cartella API Instrument (Strumento API)
  backup 46
  recupero 46
cartella Default (Predefinito), contenuto 45
cartella Example (Esempio), contenuto 45
coda
  descrizione 73
collegamenti
  contenitore di raccolta 27
collegamento
  valvola deviatrice 33, 35
collegamento riquadri 102
Colonna Record Modified (Record modificato) 115
colonne
  aggiunta colonna formula 111
  aggiunta colonna personalizzata 111

modifica dei valori nel Batch Editor (Editor batch) 77
componenti, spedizione 146
composti, confermare presenza 52, 139
condizioni ambientali, richieste 12
conferma, presenza di composti 52, 139
configurazione
pompa a siringa 40
pompa siringa 66
contaminazione incrociata, evitare 131
contaminazione, suggerimenti per la risoluzione dei problemi 136
Contattateci 15
contenitore di raccolta
collegamento 27
svuotamento 133
contour plot, visualizzazione 98
copia
esperimenti contenuti in un periodo 67
esperimenti in un periodo 66
grafici in una nuova finestra 101
sottoprogetti 44
Crea metodo di quantificazione
descrizione 105
creazione
batch 74
batch da file di testo 81
metodi di acquisizione 65
metodi di quantificazione 105
profili hardware 37
progetti e sottoprogetti 43
query standard 108
sottoprogetti 44
Tabelle risultati 107
cromatogrammi
descrizione 91
estrazione ioni tramite selezione delle masse 94
generazione cromatogrammi picco base 95
icone 152
range di sottrazione bloccati 99
riquadri, menu pulsante destro 98
salvataggio della cronologia di esplorazione 99
spettro da un TIC, visualizzazione 92
TIC da spettro, visualizzare 92
XIC, generazione 92
cromatogrammi ioni estratti
estrazione ioni tramite selezione delle masse 94
generazione 92
generazione usando intervalli selezionati 93
XIC, generazione tramite masse dei picchi di base 94
XIC, generazione usando picco massimo 93
cromatogrammi ioni totali
generazione BPC 95
generazione da spettro 92
cromatogrammi lunghezza d'onda totale, generazione dati 97
cromatogrammi picco base, generazione 95
curve di calibrazione
descrizione 117
finestra di dialogo Regression Options (Opzioni regressione) 118
menu tasto destro 119
punti 119
regressione 117
sovrapposizione 118
visualizzazione 117

D

DAD rilevatore a serie di diodi
dati ADC, generazione 90
dati grafici, elaborazione 100
dati quantitativi, visualizzazione 91
dispositivi
aggiunta ai profili hardware 41
Ethernet 42
porte seriali 42
scheda GPIB 42
profili hardware
dispositivi di protezione individuale, precauzioni 10

E

editor metodo di acquisizione, icone 150
elaborazione
dati grafici 100
eliminazione
campioni dai batch 83
colonne personalizzate 83
riquadri 102
esperimenti
aggiunta 66
copia in un periodo 66, 67

F

FIA

cartella Acquisition Methods (Metodi di acquisizione) 51
descrizione 51
ottimizzazione automatica 57
fiale
selezione posizioni 79
file di dati
apertura 87
dati ADC 90
dati quantitativi, visualizzazione 91
elaborazione di dati grafici 100
generazione di dati DAD 97
generazione TWC 97
mostra condizioni sperimentali 88
navigare tra i campioni 87
passare a un campione non sequenziale 88
passare a un campione precedente 88
passare al campione successivo 88
regolazione soglia 98
ridimensionamento grafici 101
riquadri, affiancamento 102
riquadri, blocco 102
riquadri, eliminazione 102
riquadri, ingrandimento a tutto schermo 102
riquadri, nascondere 102
spostamento riquadri 101
visualizzazione dei dati nelle tabelle 89
campioni
file di testo
creazione da file di testo 81
importazione lotti 82
filtro aria
frequenza di manutenzione 128
Finestra di dialogo Regression Options 118
finestra Statistics (Statistiche), descrizione 120
finestre riquadri
Funzione Edit Ramp (Modifica rampa), ottimizzazione manuale 138

G

generazione
cromatogrammi picco base 95
curve di calibrazione 117
dati ADC 90
dati DAD 97
rapporti 125
spettro da un TIC 92
statistiche 120
TIC da spettro 92
TWC 97
XIC, panoramica 92
visualizzazione
gestione dei dati, descrizione 26
grafici
confronto 100
copia in una nuova finestra 101
descrizione 100
icone 101
ingrandimento 100, 101
opzioni 101
ridimensionamento 101
sovrapposizione curve di calibrazione 119

I

Icona Show or Hide Parameters (Mostra o Nascondi parametri) 106
icone
barra degli strumenti 150
cromatogrammi e spettri 152
icone del metodo di acquisizione 150
icone modalità Acquire (Acquisizione) 151
icone modalità sintonizzazione e calibrazione 152
modalità Quantitate (Quantificazione) 155
procedura guidata di quantificazione 154
scheda integration (integrazione) 154
Tabella dei Risultati 155
icone della barra degli strumenti 150
icone scheda integration (integrazione) 154
importazione
lotti come file di testo 82
impostazione
opzioni soglia 98
impostazioni
opzioni verifica picco 112
infusione
descrizione 51
ottimizzazione MS/MS 52
ingrandimento
asse x 102
asse y 102
grafici 100, 101
ingrandimento a tutto schermo, riquadri 102
integrazione manuale, descrizione 111
interruttore, pompa per vuoto, posizione 27
introduzione campione, tipi 51
invio

campioni 77
set 77
ioni prodotto, ottimizzazione 142

L

LED, descrizione 23
Lente Q0 e IQ1
frequenza di manutenzione 127
libreria
ricerca 100
ricerca con vincoli 100
lotti
confronto dei risultati 121
importazione 82
invio 77
metodi di quantificazione 104

M

manutenzione
attività, descrizione 127
backup della cartella API Instrument (Strumento API) 46
e prestazioni 127
programma 127
requisiti personale 14
materiali richiesti
pulizia 129
metodi di acquisizione
condizioni sperimentali 88
creazione 65
ID composto e metodi di quantificazione 106
modifica dal Batch Editor (Editor batch) 77
metodi di quantificazione
applicazione 77
creazione 105
definizione dei dettagli nel Batch Editor (Editor lotti) 80
descrizione 104
ritorna al metodo 117
strumenti 104
usi 104
Modalità Acquire (Acquisizione), icone 151
Modalità Quantitate (Quantificazione), icone 155
Modalità sintonizzazione e calibrazione, icone 152
modifica
metodi di acquisizione nel Batch Editor (Editor batch) 77
ordine campioni 78
modifica del sistema 15
Moduli di decontaminazione e resi 14

N

nascondere, riquadri 102
normative su salute e sicurezza ambientale 7

O

opzioni coda, impostazioni 73
opzioni verifica picchi, impostazioni 112
ottimizzazione
automatica 51
e ioni prodotto 142
manuale 138
parametri, sorgente di ionizzazione 144
ottimizzazione automatica
apparecchiature e soluzioni 50
descrizione 51
ottimizzazione del composto 50
prerequisiti 50
ottimizzazione composto
ottimizzazione manuale degli analiti 138
ottimizzazione del composto
ottimizzazione automatica degli analiti 50
ottimizzazione manuale
descrizione 138
prerequisiti 137

P

panni, come ripiegarli per la pulizia 131
parametri
ottimizzazione dei parametri per la sorgente di ionizzazione e per il gas 144
percorso delle ottiche ioniche, definizione 68
sorgente di ionizzazione, ottimizzazione 144
strumento, intervalli 147
parametri del gas
ottimizzazione 144
parametro CEM, definizione 72
parametro Curtain Gas, definizione 70
parametro del gas CAD, definizione 72
parametro del potenziale di declustering, definizione 71
parametro del potenziale in entrata, definizione 71
parametro del potenziale in uscita dalla camera di collisione

definizione 72
Parametro del potenziale in uscita dalla camera di collisione
ottimizzazione 143
parametro dell'energia di collisione
definizione 72
ottimizzazione 142
parametro di corrente nebulizzatore, definizione 69
Parametro di voltaggio IonSpray, definizione 69
Parametro GS1
definito 69
Parametro GS2
definito 69
parametro Q0, definizione 71
parametro TEM, definito 70
percorso delle ottiche ioniche, parametri 68
perdita di sensibilità, risoluzione dei problemi 136
periodi
aggiunta 66
generazione XIC 92
picchi
integrazione manuale 115
integrazione manuale, definizione 111
menu tasto destro peak review (verifica picchi) 116
verifica 112
pompa a siringa
configurazione 40
regolare della posizione 29
pompa per vuoto
interruttore di accensione/spegnimento 27
pompa siringa
configurazione 66
precauzioni chimiche, dispositivi di protezione 10
pressione di vuoto, suggerimenti per la risoluzione dei problemi 136
prestazioni dello strumento
prerequisiti 47
prestazioni strumento
materiali necessari 47
Procedura guidata di quantificazione
descrizione 104
icone 154
Procedura guidata quantificazione
Tabelle risultati, creazione 107
Processo "red tag" AB SCIEX 14
profili hardware
aggiunta di dispositivi 41
attivazione 40
attivazione non riuscita 43
creazione 37
descrizione 37
profilo, acquisizione dei dati spettrali 68
progetti
cartella API Instrument (Strumento API) 45
cartella Default (Predefinito) 45
cartella Example (Esempio) 45
cartelle installate 45
copia dei sottoprogetti 44
creazione sottoprogetti 44
elenco progetti 44
passaggio tra progetti e sottoprogetti 44
pulizia
buone pratiche 130
estremità frontale 129
materiali richiesti 129
motivi della 129
parte frontale del separatore di vuoto 133
preparazione per 131
programma di manutenzione consigliato 127
separatore di interfaccia 132
superfici 128
punti, esclusione da una curva di calibrazione 119

Q

Quantificazione rapida
descrizione 105
query
query standard 108
query standard, creazione 108
Queue Manager (Gestore coda)
menu tasto destro 85
Queue Manager (Gestore code)
descrizione 83

R

raccolta scarichi della sorgente
frequenza di manutenzione 127
rapporti, generazione 125
record, aggiunta 100
Regione Q0
pulizia 128
regolazione
posizione della pompa a siringa integrata 29
soglia 98
requisiti di ventilazione 11

Results Summary (Riepilogo risultati), descrizione 48
Results Table
  colonna Record Modified 115
  integrazione manuale dei picchi 115
Results Table (Tabella risultati)
  icone 155
Results Tables (Tabelle risultati)
  picchi, verifica 112
revisione
  integrazione manuale dei picchi 115
revisione dei picchi
  integrazione manuale dei picchi 115
ricerca
  libreria 100
  ricerca con vincoli 100
ridimensionamento grafici 101
rilevatore a serie di diodi
  generazione di dati 97
  generazione TWC 97
rimozione
  collegamenti 102
ripristino del sistema 28
riquadri
  affiancamento 102
  blocco 102
  cancellazione 102
  collegamenti, rimozione 102
  collegamento 102
  ingrandimento a tutto schermo 102
  nascondere 102
  spostamento 101
Riquadro Show File Information (Mostra informazioni file), menu tasto destro 88
risoluzione dei problemi
  profili hardware 43
  sistema 136

S

salto picchi, acquisizione dei dati spettrali 68
scarichi della sorgente
  contenitore di raccolta, svuotamento 133
Schede di Sicurezza 10
Schermata Adjust Performance (Regola prestazioni), descrizione 48
selezione
  posizioni fiale 79
  vial 77
sensibilità e manutenzione 128
separatore di interfaccia
  frequenza di manutenzione 127
separatore di vuoto
  frequenza di manutenzione 127
  pulizia 133
simboli del pannello, descrizione 23
simboli di rischio 16
sistema
  avvio 27
  collegamenti 23
  componenti 22, 23
  componenti della spedizione 146
  descrizione 22
  gestione dei dati 26
  icone di stato 85
  principi teorici di funzionamento 25
  pulizia delle superfici 128
  requisiti personale manutenzione 14
  resi al produttore 14
  rimettere in funzione 133
  ripristino 28
  spegnimento 28
  suggerimenti per la risoluzione dei problemi 136
  uso e modifica 15
  spettrometro di massa
slide show peak review (immagini sequenziali verifica picchi) 117
software Reporter
  descrizione 122
  formati di uscita 125
  interfaccia utente, descrizione 123
software, icone di stato 85
soglie
  regolazione 98
soluzioni di sintonizzazione, consigliate 149
soluzioni organiche, conservazione 131
solventi
  macchie sul separatore di interfaccia 132
solventi organici, elenco dei 10
sorgente di ionizzazione
  ottimizzazione dei parametri per la sorgente di ionizzazione e per il gas 144
  preparazione per l'ottimizzazione del composto 144
sottoprogetti
  copia 44
  creazione 44
sovrapposizione curve di calibrazione 118

Spectra Peak List (Elenco picchi spettrali), menu pulsante destro 90
spettri
  estrazione ioni tramite selezione delle masse 94
  icone 152
  XIC, generazione tramite masse dei picchi di base 94
  XIC, generazione usando intervalli selezionati 93
  XIC, generazione usando picco massimo 93
spettro
  libreria, ricerca 100
  menu pulsante destro 99
  record, aggiunta 100
  salvataggio della cronologia di esplorazione 100
  visualizzazione da un TIC 92
spettrometro di massa
  accesso al connettore di alimentazione 9
  collegamenti 23
  componenti 22, 23
  LED 23
  modalità standby 28
  principio di funzionamento 25
  pulizia delle superfici 128
  resi al produttore 14
  scollegamento alimentazione 135
  simboli del pannello 23
  spegnimento 28
  stoccaggio o spedizione, preparazione 135
  verifica delle prestazioni 47
  sistema
spostamento, riquadri 101
standard
  statistiche, generazione 120
stati della coda, descrizione 83
statistiche
  confronto dei risultati tra lotti 121
  generazione 120
stato Acquiring, descrizione 84
stato Not Ready, descrizione 84
stato Paused, descrizione 84
stato PreRun, descrizione 84
stato Ready, descrizione 84
stato Stand By, descrizione 84
stato Waiting, descrizione 84
stato Warming Up, descrizione 84
suggerimenti
  Batch Editor (Editor batch) 77
  risoluzione dei problemi 136
superfici
  spettrometro di massa, pulizia 128
svuotamento, contenitore di raccolta scarichi della sorgente 133

T

Tabella risultati
  rapporti, generazione 125
Tabelle dei risultati
  descrizione 105
tabelle risultati
  menu tasto destro 111
Tabelle risultati
  creazione 107
  curve di calibrazione, generazione 117
  opzione Add Custom Column (Aggiungi colonna personalizzata) 111
  opzione Add Formula Column (Aggiungi colonna formula) 111
  opzione Fill Down (Ricopia in basso) 111
tamponi, elenco dei 11
tecniche di scansione
  definizione 67
  tipi di scansione in modalità quadrupolo 67
TIC cromatogrammi ionici totali
tipi di scansione
  descrizione 138
  modalità quadrupolo 67
tipi di scansione MS/MS, definizione 67
TWC cromatogrammi lunghezze d'onda totali

V

valvola deviatrice
  collegamento 33
verifica
  picchi 112
  spettrometro di massa 47
verifica dei picchi
  descrizione 111
verifica picchi
  curve di calibrazione, sovrapposizione 118
  finestra di dialogo opzioni, apertura 116
  immagini sequenziali 117
  menu tasto destro 116
vial
  selezione in un batch 77
visualizzazione

curve di calibrazione 117
dati quantitativi 91
statistiche 120
visualizzazione: generazione
vuoto, pulizia ordinaria 129

X

XIC cromatogrammi ioni estratti
XWC cromatogrammi lunghezze d'onda estratte